

AUS DEM LEHRSTUHL
FÜR HALS-NASEN-OHREN-HEILKUNDE
DIREKTOR: PROF. DR. MED. JÜRGEN STRUTZ
DER MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

ALTERSBEDINGTE VERÄNDERUNGEN DES INHIBITORISCHEN SYSTEMS IM
NUCLEUS COCHLEARIS DER MONGOLISCHEN WÜSTENRENNMAUS
(MERIONES UNGUICULATUS)

Inaugural – Dissertation
Zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnmedizin

der
Medizinischen Fakultät
der Universität Regensburg

vorgelegt von
Katrin Stehle

2010

Dekan:	Prof. Dr. Bernhard Weber
1. Berichterstatter:	PD Dr. Otto Gleich
2. Berichterstatter:	Prof. Dr. Helmut Schweikl
Tag der mündlichen Prüfung:	29. März 2010

In tiefer Dankbarkeit
meinen Eltern gewidmet

Inhaltsverzeichnis

A	Einleitung	1
B	Material und Methoden	5
1.	Histologische Aufarbeitung	5
2.	Lichtmikroskopische Auswertung	9
2.1	Auswahl der Schnitte aus den rostro-caudalen Schnittserien	9
2.2	Digitalisierung der Schnitte	11
2.3	Vermessung der Unterkerne	15
2.4	Zählung der Neurone	17
C	Ergebnisse	19
1.	Altersbedingte Veränderungen der Querschnittsflächen von DCN, PVCN und AVCN	19
2.	Altersbedingte Veränderung im AVCN	27
2.1	Untersuchung der Anzahl GABAerger und glyzinerger Neurone im AVCN	27
2.2	Untersuchung der Zelldichte GABAerger und glyzinerger Neurone im AVCN	37
2.2.1	Zelldichte im gesamten AVCN	37
2.2.2	Zelldichte im ventralen, mittigen und dorsalen AVCN	43
2.3	Zusammenfassung	55
3.	Altersbedingte Veränderung im PVCN	57
3.1	Untersuchung der Anzahl GABAerger und glyzinerger Neurone im PVCN	57
3.2	Untersuchung der Zelldichte GABAerger und glyzinerger Neurone im PVCN	66
3.2.1	Zelldichte im gesamten PVCN	67
3.2.2	Zelldichte im dorsalen und ventralen PVCN	72
3.2.3	Vergleiche zwischen dorsalen und ventralen PVCN	81
3.2.4	Vergleiche der Dichten GABAerger mit glyzinerger Neurone im PVCN	82
3.3	Zusammenfassung	87
4.	Altersbedingte Veränderung im DCN	90
4.1	Untersuchung der Anzahl GABAerger und glyzinerger Neurone im DCN	90
4.2	Untersuchung der Zelldichte GABAerger und glyzinerger Neurone im DCN	98
4.2.1	Zelldichte im gesamten DCN	99

4.2.2	Zelldichte in der molekularen und tiefen Schicht des DCN	105
4.2.3	Zelldichte im ventralen, mittigen und dorsalen DCN	113
4.2.4	Zelldichte im ventralen, mittigen und dorsalen Bereich der molekularen Schicht des DCN	121
4.2.5	Zelldichte im ventralen, mittigen und dorsalen Bereich der tiefen Schicht des DCN	129
4.2.6	Vergleich zwischen molekularer und tiefer Schicht des DCN	138
4.2.7	Vergleich der Dichten GABAerger mit glyzinerger Neurone im DCN	141
4.3	Zusammenfassung	145
D	Diskussion	147
1.	Lage und Anatomie des CN	147
2.	Aufbau und Zellpopulationen von AVCN, PVCN und DCN	148
3.	Verteilung der inhibitorischen Transmitter GABA und Glyzin im AVCN, PVCN und DCN	161
4.	Warum wird das inhibitorisch System untersucht? - Funktion der inhibitorischen Transmitter GABA und Glyzin im CN	164
5.	Das Problem Presbycusis – altersbedingter Hörverlust	166
6.	Alterbedingte Veränderungen im CN	169
6.1	Vergleichende morphometrische Untersuchungen im AVCN	169
6.2	Beurteilung morphometrischer Veränderungen im AVCN	172
6.3	Vergleichende morphometrische Untersuchungen im PVCN	175
6.4	Beurteilung morphometrischer Veränderungen im PVCN	176
6.5	Vergleichende morphometrische Untersuchungen im DCN	178
6.6	Beurteilung morphometrischer Veränderungen im DCN	180
7.	Physiologische altersbedingte Veränderungen im CN	182
8.	Altersbedingte synaptische Veränderungen des inhibitorischen Systems	183
E	Zusammenfassung	187
F	Literaturverzeichnis	189
G	Abkürzungsverzeichnis	203
H	Danksagung	204
I	Lebenslauf	205

A EINLEITUNG

Altersbedingter Hörverlust (Presbyakusis) ist ein komplexer Zustand, der bedingt durch pathologische Veränderungen im Hörsystem zum Abfall der Hörleistung führt. Die Ausprägung und Genese verschlechterten Hörens sind stets unterschiedlich und betreffen nicht unweigerlich jeden Menschen gleich. Allein die einzelnen Funktionsbereiche der Hörbahn, die aneinandergereiht als Kette, den Lebewesen die Möglichkeit bieten, mechanische Schwingungen in elektrische Impulse umzuwandeln und diese in letzter Konsequenz als Ton- und Klanginformation wahrzunehmen und z.B. als Sprachinformation zu verarbeiten, machen die Vielfalt und Komplexität möglicher Hörschäden deutlich. So können Hörbeeinträchtigungen in den verschiedensten Stationen des Gehörs auftreten: beginnend in der Peripherie in der Ohrmuschel, am Gehörgang, am Trommelfell und an den Gehörknöchelchen des Mittelohres, gefolgt vom Innenohr mit der Cochlea und dem Cortischen Organ und zuletzt in den zentralen Kernen der aufsteigenden Hörbahn und im auditorischen Cortex.

Die Ausprägung der Hörminderung oder die verbleibende Hörqualität ist von der Lokalisation der Hörstörung abhängig. Während degenerative Veränderungen im Alter an der Ohrmuschel, im äußeren Gehörgang, am Trommelfell oder den Gehörknöchelchen des Mittelohres nicht messbar sind (Hesse, 2006), zeichnen sich altersbedingte Schäden im Innenohr durch Erhöhung der Hörschwelle im Schwellenaudiogramm aus. Die größte Schwellenerhöhung entwickelt sich beim Menschen bei hohen Tönen (ab 2kHz), wobei mit zunehmendem Lebensalter auch immer mehr die mittleren und tiefen Frequenzen, die entscheidend für den Sprachgebrauch sind, betroffen werden (Hesse, 2006). Diese Art von Hörverlust führt in erster Linie zu einem Sensitivitätsverlust. Vor allem leise Töne können nicht mehr gut verstanden werden. Durch lauterer Sprechen oder durch lauter Drehen der Hörquelle kann dieser Verlust kompensiert werden. Als weiteres Problem führt der Hochtonverlust zu einem verschlechterten Verstehen von Konsonanten wie s, t, f, p, k und Kombinationen aus Konsonanten wie ch und sch. Zudem wird das Ohr zunehmend empfindlicher gegenüber Störgeräuschen (aus: „hear it“: Kommunikationsschwierigkeiten, <http://german.hear-it.org>). Das Verstehen von

Sprache wird für den Betroffenen immer schwieriger, wobei diese Art von Hörstörung durch gut angepasste Hörgeräte kompensiert werden kann.

Gegenüber peripheren Störungen stehen zentrale Veränderungen, die sich in veränderter Neuronenzahl, Struktur und Biochemie der Neurone in Kernen der aufsteigenden Hörbahn ausprägen können. Das Hauptproblem bei zentralen Veränderungen zeichnet sich durch verschlechtertes Sprachverständnis bei Hintergrundgeräuschen aus. Trotz normalem peripherem Hörvermögen und unveränderter Innenohrfunktion, können im Alter Probleme auftreten, Sprache vor allem im lauten Umfeld richtig wahrzunehmen. Mechanismen, die für die zeitliche Codierung akustischer Reize verantwortlich sind, sind gestört.

Einen entscheidenden Beitrag in der Schallverarbeitung in der zentralen Hörbahn bildet das inhibitorische System aus lokal unterschiedlich verbreiteten Interneuronen, die eine Art Rückkopplung und Gegenregulation auf die Neurone bilden, die die Hauptinformation in höhere Hirnregionen transportieren. Ohne ihr Mitwirken wäre ein Erkennen von Sprache oder Lauten nicht möglich. Veränderungen in diesem System führen unweigerlich zu verminderter Hörleistung (Caspary, 2008). Zahlreiche psychoakustische und physiologische Tests machen die wichtige Funktion dieses Systems deutlich (Caspary et al., 1987, Ebert und Ostwald, 1995, Caspary et al., 1994, 2005, Backoff et al., 1997, Frisina und Walton, 1994, Boettcher et al., 1996, Poth et al., 2001, Hamann et al., 2004, Snell et al., 1997, Snell und Frisina, 2000, Gleich et al., 2003, 2007). Mit Hilfe der inhibitorischen Neurone können schnell veränderliche Intensitäts- und Frequenzunterschiede erfasst, minimale Lücken in der Tonabfolge erkannt und zeitlich genau codiert und weitergeleitet werden. Zudem spielt es eine wichtige Rolle in der Echounterdrückung.

Daneben ist das inhibitorische System unerlässlich in der Lokalisation von Schallquellen. Durch das Zusammenspiel von ipsilateralen erregenden und kontralateralen hemmenden Eingängen in der lateralen oberen Olive (LSO), kann der Kontrast interauraler Pegelunterschiede verstärkt werden und so zu einer besseren Ortung der Schallquelle beitragen. Auch für die Detektion des Laufzeitunterschiedes in der medialen oberen Olive (MSO) spielen erregende und hemmende Eingänge aus beiden Seiten eine entscheidende Rolle.

Deutliche Veränderungen im Inferior Colliculus (IC) des GABAergen Transmittersystems zwischen alten und jungen Ratten zeigte Caspary et al. (1995). Neben verminderter GABA Konzentration, verminderter GABA- Ab- und Aufnahmen, verringerte präsynaptische Terminalien und veränderte GABA_A Rezeptorbindungseigenschaften, ergab sich eine signifikante Abnahme GABAerger Neurone (Caspary et al., 1995). Dagegen sind bis jetzt im oberen Olivenkomplex relativ geringe altersbedingte Veränderungen dokumentiert worden (Caspary et al., 2008). Morphologische Untersuchungen zu altersbedingten Veränderungen des inhibitorischen Systems im Tierlabor der HNO-Klinik der Universität Regensburg an der Wüstenrennmaus zeigten für den medialen Kern des Trapezkörpers (MNTB) bei Wüstenrennmäusen für glyzinerge Neurone eine signifikante Abnahme ihrer Somagröße (Gleich und Strutz, 2002). Im lateralen Kern des Trapezkörpers (LNTB) nahm die Größe der GABAergen und glyzinerger Neurone im Vergleich junger zu alten Wüstenrennmäusen signifikant ab (Gleich et al., 2005). Dagegen wurde im lateralen oberen Olivenkern nur im hochfrequenten Anteil für GABAerge und glyzinerge Neurone eine Abnahme ihrer Zellgröße dokumentiert (Gleich et al., 2004). Das Volumen der einzelnen Kerne und die Anzahl inhibitorischer Neurone scheinen alterbedingten Einflüssen gegenüber unverändert zu bleiben.

Altersbedingte Veränderungen des inhibitorischen Systems innerhalb der aufsteigenden Hörbahn in den verschiedenen Kernen zeigen somit ganz unterschiedliche Ausprägungen und sind wahrscheinlich auch unterschiedlich stark betroffen.

Da der Nucleus cochlearis (CN) als erster Kern der aufsteigenden Hörbahn allen anderen Kernen der zentralen Hörbahn vorgeschaltet ist und höhere Kerne mit Information versorgt (Strutz, 1987), sind Veränderungen im inhibitorischen System von entscheidender Bedeutung. Ein reduziertes Antwortverhalten der „fusiform cells“ (Prinzipalzellen im dorsalen Bereich des CN, die exzitatorisch Information zum Inferior Colliculus transportieren) sind direkt auf einen alterbedingten Verlust glyzinerger Hemmung im CN zurückzuführen (Caspary et al., 2005). Zudem deuten auch andere Studien auf eine alterbedingte Abnahme inhibitorischer Transmitterfunktion im CN hin (Banay-Schwartz et al., 1989a,b, Willott et al., 1997, Krenning et al., 1989, Milbrandt und Caspary, 1995).

Diese Arbeit soll dazu beitragen, altersbedingte morphologische Veränderungen im inhibitorischen System auf der Ebene des CN festzustellen. Dabei wird zum einen die Querschnittsfläche vergleichbarer repräsentativer Hirnschnitte junger und alter Wüstenrennmäuse untersucht und zum anderen die Zellzahlen und daraus die Dichten GABAerger und glyzinerger Neurone in den CN-Unterkernen, dem anteroventralen (AVCN), posteroventralen (PVCN) und dorsalen (DCN) Cochleariskern, verglichen.

B MATERIAL UND METHODEN

Für diese Arbeit wurden Mongolische Wüstenrennmäuse (Gerbils, *Meriones unguiculatus*) herangezogen, die in den zentralen Tierlabors der Universität Regensburg (Gleich et al, 2000) gezüchtet wurden.

Um mögliche altersbedingte Veränderungen in Kerngebieten des Nucleus Cochlearis histologisch untersuchen zu können, wurden 11 „junge“ Gerbils im Alter von 4-16 Monaten und 18 „alte“ Gerbils mit 36-57 Lebensmonaten verglichen.

Die Analyse wurde an ausgewählten frontalen Schnitten durchgeführt, bei denen entweder eine immunhistochemische Darstellung der Expression von GABA (Gamma-Aminobutyrat) oder Glyzin erfolgte.

1. Histologische Aufarbeitung

Den Tieren wurde eine letale Dosis von 0,4 ml eines Narkosegemisches intraperitoneal verabreicht. Hierfür wurden 0,3 ml Ketamin (10%) und 0,4 ml Rompun (2%) gemischt. Nach Eintritt des Atemstillstandes wurde das Herz freigelegt. Eine Knopfkanüle wurde durch einen kleinen Schnitt in die linke Herzkammer eingeführt und mit einer Gefäßklemme fixiert. Dann wurde der rechte Vorhof eröffnet und mittels einer Perfusionspumpe das gesamte Gefäßsystem für 1-2 Minuten mit 0,9% Kochsalzlösung (NaCl) gespült. Nach Auswaschen des Blutes wurden 250 ml einer Fixierlösung (4% Paraformaldehyd und 0,1% Glutardialdehyd in 0,1 M Natriumphosphat-Puffer bei pH 7,4) innerhalb von 30 Minuten perfundiert.

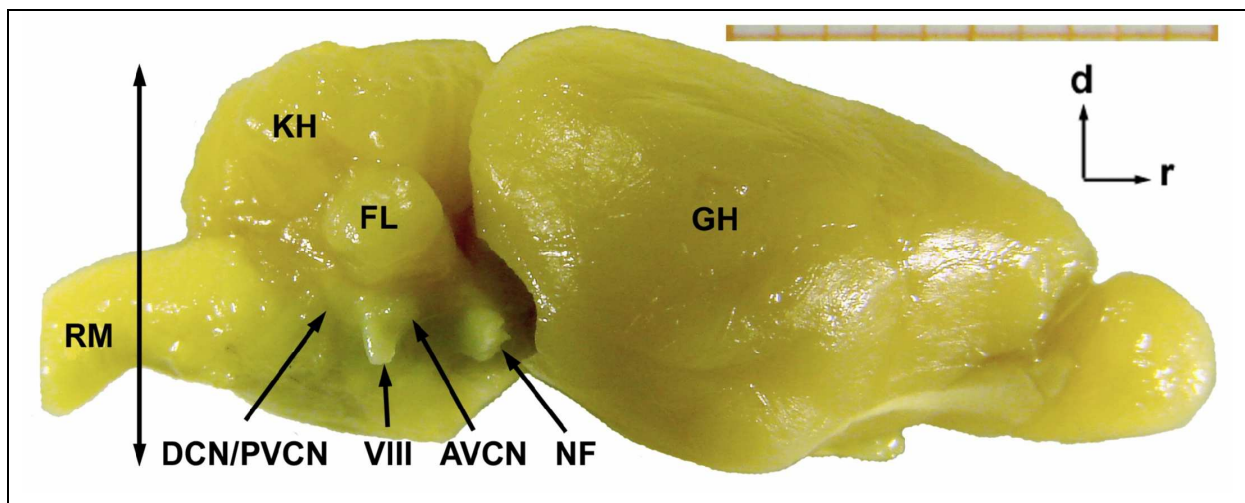


Abb. 1: Seitlicher Blick auf das Gehirn eines Gerbils. Das Pfeildiagramm oben rechts kennzeichnet die dorsale (d) und die rostrale (r) Ausrichtung des Gehirns. Der Maßstabsbalken entspricht 1cm. Der lange vertikale Pfeil zeigt die Schnittrichtung an. RM: Rückenmark, KH: Kleinhirn, GH: Großhirn, FL: Flocculus Cerebelli, VIII: Hörnerv/N.vestibulo cochlearis, NF: N. facialis

Das Gehirn wurde aus der Schädelkapsel freipräpariert. Dabei wurde der äußere Gehörgang sowie die Bulla beurteilt, um Mittelohrentzündungen oder Blockaden des Gehörgangs, die die Luftleitung und somit die Hörqualität beeinträchtigen können, zu entdecken.

Die Gehirne wurden anschließend für ca. 30 Minuten in 0,1 M Phosphat-Puffer (=PB) bei pH 7,4 gewaschen und über Nacht bei 4°C auf dem Schüttler in einer 30% Saccharose-Lösung in PB kühl gestellt und dann durch einen senkrechten Schnitt von dorsal nach ventral im Bereich des Großhirns getrimmt.

Mit dieser Schnittfläche wurden die Gehirne auf den vorgekühlten Objekthalter mit TissueTek bei -16°C aufgefroren und dann mit dem Gefriermikrotom (Cryostat, Leica) bei einer Schnittdicke von 25µm eine frontale Schnittserie durch den Hirnstamm erstellt.

Abwechselnd wurden die Hirnschnitte nacheinander fortlaufend in vier „24-well plates“ vorsichtig in PB überführt. Die Schnittserie in einem „24 well- plate“ besteht aus jedem fünften Gehirnschnitt. Somit erhält man vier gesonderte Schnittserien eines Gehirnes, bei denen der Abstand zwischen einzelnen Schnitten 100µm beträgt. Diese vier Serien wurden unterschiedlichen Färbeprozessen unterzogen:

Die „erste“ Serie diente zur Durchführung einer GABA- und die „dritte“ zur Glyzin-Immunfärbung. Mit der „zweiten“ und „vierten“ Schnittserie wurden Nissl-Färbungen durchgeführt.

Die Abbildung 1 zeigt ein freipräpariertes Gehirn eines Gerbils: Der Maßstabsbalken entspricht 1cm, angegeben ist die Schnittrichtung, in der das Gehirn zerteilt wurde. Der hinter dem Hörnerv liegende dorsale und posteroventrale (DCN und PVCN) Cochleariskern und vor dem Hörnerv der antero-ventrale (AVCN) Cochleariskern sind gekennzeichnet.

Die Hirnschnitte mit der Nissl-Färbung wurde in meiner Arbeit nicht quantitativ untersucht. Sie dienten für die anfängliche Orientierung beim Erarbeiten der Anatomie des Cochleariskerns.

Für die Nissl-Färbungen folgten nachstehende Schritte:

Die Schnittserien „zwei“ und „vier“ wurden in eine Petrischale mit PB überführt und von dort mittels feiner Pinsel auf Superfrost plus Objektträger in richtiger Reihenfolge und Seitenausrichtung aufgezogen. Pro Objektträger kamen im Durchschnitt 8-10 Schnitte zu liegen. Nach gründlicher Trocknung wurden sie mit aqua dest. gewaschen und anschließend zur Färbung für 10 Minuten in Kresylviolett-Farblösung (2,5g Kresylviolett, 0,102g Na-Acetate, 1,55ml Eisessig, 500ml aqua dest., pH 3,5) belassen. Der Farbüberschuß wurde anschließend mit aqua dest. abgespült und die Objektträger für 3 Minuten in 96% Ethanol überführt. Zur Farbdifferenzierung bis zum gewünschten Färbegrad wurden die Objektträger in eine Lösung aus 300ml 96%-igen Ethanol und 1ml Eisessig gelegt. Zum Entwässern diente ein Folgebad von jeweils 3-mal 3 Minuten in 96%-igen Ethanol und 2-mal in 100%-igen Ethanol. Zuletzt folgte eine Überführung in Xylol, dann wurden die Schnitte mit dem Einschlußmittel Entellan (Merck) und einem Deckglas versehen.

Bei den Schnittserien „eins“ und „drei“ wurde immunhistochemisch die Expression von GABA und Glyzin dargestellt. Sie wurden zuerst 3-mal für 10 Minuten in PBS (= PB mit 0,9% NaCl) gewaschen. Um endogene in den Schnitten vorhandene Peroxidase-Aktivität zu blockieren, wurden die Schnitte für 60 Minuten in PBS mit 3% H₂O₂ und 10% Methanol deaktiviert. Anschließend wurde 3-mal mit PBS für je 10 Minuten gespült. Die Schnittserie „drei“ für die Glyzin-Immunfärbung wurde für 10 Minuten in frisch angesetzter 0,1 M Natrium-Borhydrid-Lösung in PBS reduziert und im Anschluß 10 Minuten mit PBS gewaschen.

Die Schnittserie „eins“ für die GABA-Immunfärbung wurde nur in PBS aufbewahrt.

Beide Schnittserien wurden dann zweimal mit 0,3% Triton X100 in PBS (PBST) gewaschen. Um nicht spezifische Bindungsstellen zu blockieren, wurden beide Serien 30 Minuten lang in einer Lösung aus 10% Normalem Esel Serum (Dianova), 2,5% Magermilchpulver (Milupa) und 0,3% Triton X100 in PBS inkubiert. Diese Lösung wurde abpipettiert und beide Schnittserien ohne weiteren Waschvorgang mit ihren entsprechenden Antikörperlösungen versehen. Jeder 6. Schnitt in einer Serie enthielt als Kontrollschnitt eine Lösung ohne Antikörper. Die Grundlösung enthielt 0,1% normales Esel Serum, 2,5% Magermilchpulver (Milupa) und 0,3% Triton X100. Hinzu kamen die jeweiligen Antikörper. Für Glyzin: Chemicon, polyklonales Hasen-Anti-Glyzin, AB139, 1:150; für GABA: Chemicon, monoklonales Maus-Anti-GABA, MAB316, 1:200. Die Inkubation erfolgte über Nacht im Kühlraum auf dem Schüttler bei 4°C. Im Anschluss folgte eine 3-mal 10-minütige Waschung mit PBST und daraufhin eine zweistündige Inkubation mit den sekundären Antikörpern. Für Glyzin: Dianova, biotinylierter Esel gegen Kaninchen Antikörper, 1:250 ; für GABA: Dianova biotinylierter Esel gegen Maus Antikörper, 1:400. Die Schnittserien wurden wieder dreimal mit PBST gewaschen und mit Meerrettichperoxidase konjugiertem Avidin-Biotin Komplex (Vectastain) für eine Stunde (laut Herstellerangaben) inkubiert. Bevor sie für 10 Minuten mit Diamminbenzidin-Lösung (0,05% DAB, 0,02% Ammonium Nickel Sulfat in PBST) zum Inkubieren gebracht wurden, wurden die Schnittserien wieder 3-mal für 10 Minuten mit PBST gewaschen. Zur 0,05%-igen Diamminobenzidin-Lösung wurde dann H₂O₂ hinzugegeben, um auf eine endgültige Konzentration von 0,006% zu kommen. So wurden sie für weitere 10 Minuten inkubiert, 3-mal für 10 Minuten mit PBST gewaschen und über Nacht bei 4°C eingelagert. Am Morgen wurden die Schnitte in Petrischalen mit aqua dest. überführt. Von dort wurden sie wie oben beschrieben auf Objektträger aufgezogen. Nach vollkommener Trocknung wurden die Objektträger mit destilliertem Wasser gewaschen und zum Entwässern mit Alkoholen aufsteigender Konzentration (70%, 80%, 90%, 96%, 100%) gebadet. Anschließend wurden sie Xylol überführt und mit dem Einschlussmittel Entellan (Merck) und einem Deckglas eingedeckt.

2. Lichtmikroskopische Auswertung

2.1 Auswahl der Schnitte aus den rostro-caudalen Schnittserien

Insgesamt standen frontale Schnittserien von 64 Wüstenrennmäusen zur Verfügung. Daraus mussten für die Analyse komplette und artefaktfreie Serien durch den CN von den Tieren ohne Probleme im Bereich des äußeren Gehörgangs oder des Mittelohrs ausgewählt werden.

Der am meisten caudal gelegene Schnitt, auf dem der DCN zu erkennen war, stellte sich als sichelförmige Erhebung über den lateralen Hirnstamm (Moore, J.K. 1986) dar. In den nach frontal folgenden Schnitten lies sich schon sehr bald die charakteristische Dreischichtung des DCN (molekulare, fusiforme, sowie eine polymorphe tiefe Schicht mit Riesenzellen) erkennen. Der N. vestibulocochlearis, dessen Fasern von ventral in den CN einstrahlen und der den PVCN vom AVCN trennt, diente ebenfalls als „Landmarke“. Die Schnitte, in denen die Nervenfasern von ventral in den VCN einstrahlen, sind eindeutig zu erkennen. Als Ende der Schnittabfolge (100% Schnittstelle) diente der am meisten rostral gelegene Schnitt, in dem letzte Zellansammlungen (Sphärische und Multipolare Zellen) des AVCN zu erkennen waren.

Um einen direkten Vergleich zwischen den einzelnen Tieren zu ermöglichen, wurden anhand von anatomischen Landmarken Schnitte an spezifischen rostro-caudalen Positionen ausgewählt. Dazu diente wie oben beschrieben der am meisten caudal gelegene Anschnitt des DCN, der am meisten caudal und am meisten rostral gelegene Schnitt des Hörnervs und der am meisten rostral gelegene Anschnitt des AVCN. Da die Längsachse der Gehirne beim Schneiden nicht immer perfekt senkrecht zur Schnittebene ausgerichtet waren, erfolgte dies separat für den rechten und linken Cochleariskern. Als Referenz für die Auswahl der im Detail zu untersuchenden Schnitte wurde die Mitte des Hörnervs, also die Mitte zwischen dem am meisten caudal und am meisten rostral gelegenen Schnitt definiert. Für die Analyse des DCN/PVCN wurde dann der Schnitt ausgewählt, der mittig zwischen dem am meisten caudal gelegenen Anschnitt des DCN und der Mitte des Hörnervs lag. Für die Analyse des AVCN wurde der Schnitt ausgewählt, der mittig zwischen

der Mitte des Hörnervs und dem am meisten rostral gelegenen Schnitt durch den AVCN lag (siehe Abbildung 2).

Durchgeführt wurde die Sichtung zur Auswahl geeigneter Schnittserien und der für die detaillierte Analyse geeigneten Schnitte mit Hilfe eines Lichtmikroskopes (Laborlux, Leica). Verwendet wurden Objektive mit der Vergrößerung 2,5x, 10x, 25x und 40x mit einem 12,5-fach vergrößernden Okular. Zur Dokumentation wurden mittels einer Videokamera (JVC TK-C1381, Color Video Camera, Digital 0,5 Inch CCD) und dem Bildverarbeitungsprogramm PicEd Cora (Version 8.38, Jomesa Meßsysteme GmbH, München, Deutschland) Bilder auf einen 17 Zoll Bildschirm übertragen und einzelne Bilder digitalisiert.

Abbildung 2 zeigt in einer vereinfachten Darstellung einen lateralen Blick auf den rechten Cochleariskern einer Wüstenrennmaus. Die drei Unterkerne mit der ungefähren Lage der für die detaillierte Analyse ausgewählten Schnitte sind dargestellt.

Ausgesondert wurden Tiere mit unvollständigen Schnittserien, Artefakten, groben Rissen und Überlagerungen in den auszuwertenden Bereichen der Schnittserie. Sowie Tiere, bei denen Unregelmäßigkeiten im Bereich des Gehörgangs oder der Bulla aufgefallen waren. Es ergaben sich 14 Gerbils, an denen immunhistochemische Färbungen sowohl für GABA als auch Glyzin untersucht werden konnten. Bei 11 Tieren wurden nur die GABA-Färbung und bei 4 Tieren nur die Glyzin-Färbung zur Untersuchung herangezogen. Um eine Beeinflussung oder einen systematischen Fehler bei der Datenerhebung zu vermeiden, war das Alter der Tiere während der gesamten Datenerhebung nicht bekannt.

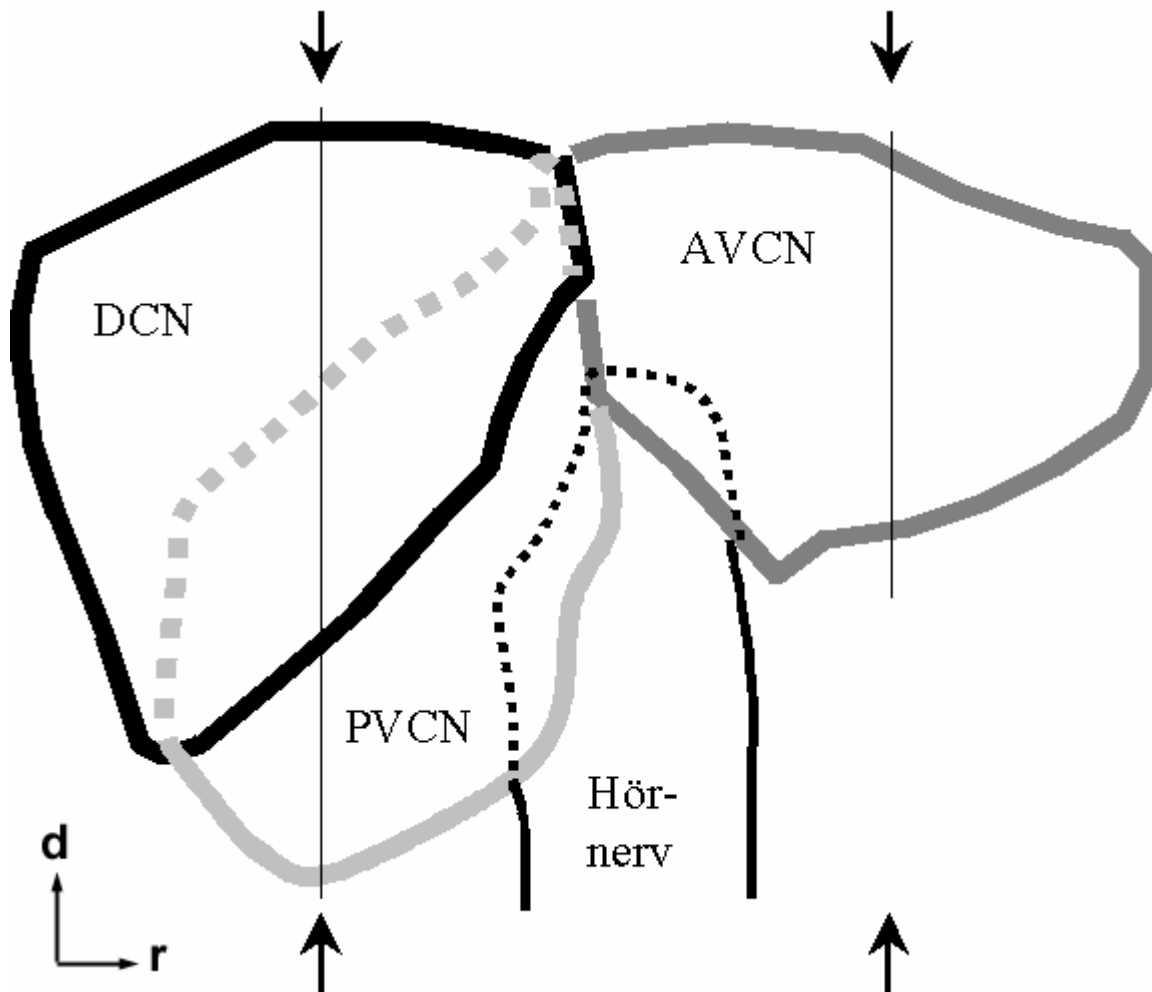


Abb. 2: Lateraler Blick auf den schematisch dargestellten rechten CN mit Kennzeichnung der ausgewählten Schnittstellen (senkrechte durch Pfeile gekennzeichneten Linien). Das Pfeildiagramm unten links gibt die dorsale (d) und die rostrale (r) Richtung an.

2.2 Digitalisierung der Schnitte

Zur Digitalisierung der für die detaillierte Analyse ausgewählten Schnitte wurde ein Mikroskop der Firma Leica (Leitz DM- RBE), eine Digitalkamera „spot 2000“ (Diagnostic Instruments, inc.) mit zugehöriger Rechnersteuerung und das Computerprogramm „Metamorph“ (Version 3.51; Universal Imaging Corporation, West Chester, NY, USA) benutzt. Die Auflösung der digitalisierten Bilder betrug bei den benutzten 20x Objektiv 0,3490µm pro Pixel. Die Bilder wurden mit dem roten Farbkanal im 12 bit Modus (= 4096 Graustufen) aufgenommen und als 16 bit Graustufenbild (65536 Graustufen) abgespeichert. Zuerst wurden optimale Beleuchtungsparameter ermittelt: Lampenspannung, Belichtungszeit und Graufilter

wurden auf die Variabilität der Färbeintensitäten zwischen einzelnen Präparaten abgestimmt. Ziel war es hier für alle Schnitte einen Satz von Parametern zu finden bei dem die Minima und Maxima der Grauwertverteilung über 0 und unter 4096 lagen. Da alle Schnitte mit den gleichen, so etablierten Parametern digitalisiert wurden ist es möglich eine quantitative Untersuchung der Färbeintensität durchzuführen und so ein quantitatives Maß für die Expression von GABA bzw. Glyzin zu erhalten.

Vor jeder Digitalisierung einer Bildserie (für einen Schnitt) wurde nach erfolgter Einstellung der Belichtungs- und Beleuchtungsparameter ein „Leerbild“ (ohne Objektträger) aufgenommen, in ein „Negativbild“ umgewandelt und als Maske benutzt, die von jedem Bild der Serie subtrahiert wurde. Dies diente dazu, Störfelder im Strahlengang des Mikroskops zu korrigieren und die Bilder gleichmäßig auszuleuchten.

Für die Aufnahme eines Schnittes waren viele Einzelbilder notwendig, die mit Zuhilfenahme eines Rasters aufgenommen und nach Subtraktion des Hintergrunds einzeln fortlaufend nummeriert als tif-Dateien abgespeichert wurden. Die Fokussuche erfolgte über das 10-er Objektiv, die Aufnahme über das 20-er Objektiv. Es wurde stets die tiefste Ebene des Schnitts scharf gestellt, also derjenige Bereich, der auf dem Objektträger aufsitzt. Somit wurde gewährleistet, stets in der gleichen Aufnahmeebene zu bleiben und unnötige Unschärfen, bedingt durch Unebenheiten der Schnittoberfläche, zu vermeiden. Bei manchen Präparaten waren die Ränder durch Aufwölbung und Stauchung unscharf. An diesen Bildstellen wurden mehrere Bilder desselben Bildfelds in unterschiedlichen Ebenen aufgenommen. Diese einzelnen Ebenen wurden später im Photoshop (Version 4.0, Adobe) übereinander gelegt und die unscharfen Bereiche der einzelnen Ebenen mit dem Radierwerkzeug ausradiert. So wurden diese Randartefakte ausgeglichen und es entstanden scharfe Bilder.

Um die originalen 16bit Bilddateien in Photoshop zu einer Übersicht des gesamten Schnittes mit hoher Auflösung zusammenzusetzen, mussten sie in 8bit Graubilder umgewandelt werden. Dafür wurde eine geeignete Tonwertanpassung vorgenommen, um die 16bit Bilder mit 65536 Graustufen optimal im 8bit Modus mit nur 256 Graustufen darzustellen zu können. Dies erfolgte in mehreren Schritten, aber identisch für sämtliche Bilder und alle Schnitte. Anschließend wurden alle Einzelbilder in den 8 bit Modus überführt, die so bearbeiteten Bilddateien separat

abgespeichert, so dass die originalen 16bit Bilddateien für mögliche spätere Analysen unverändert erhalten blieben. Danach wurden die Teil-Bilder eines Schnittes im Photoshop zu einem Gesamtbild zusammengefügt und ebenfalls separat abgespeichert. Es sei angemerkt, dass immer darauf geachtet wurde, sämtliche Bilder gleich zu behandeln.

Abbildung 3 zeigt für beide Färbungen, GABA und Glyzin, jeweils den für die detaillierte Analyse ausgewählten Schnitt von DCN/PVCN und vom AVCN. Hierfür wurde das Tier mit der Nummer 808 ausgewählt.

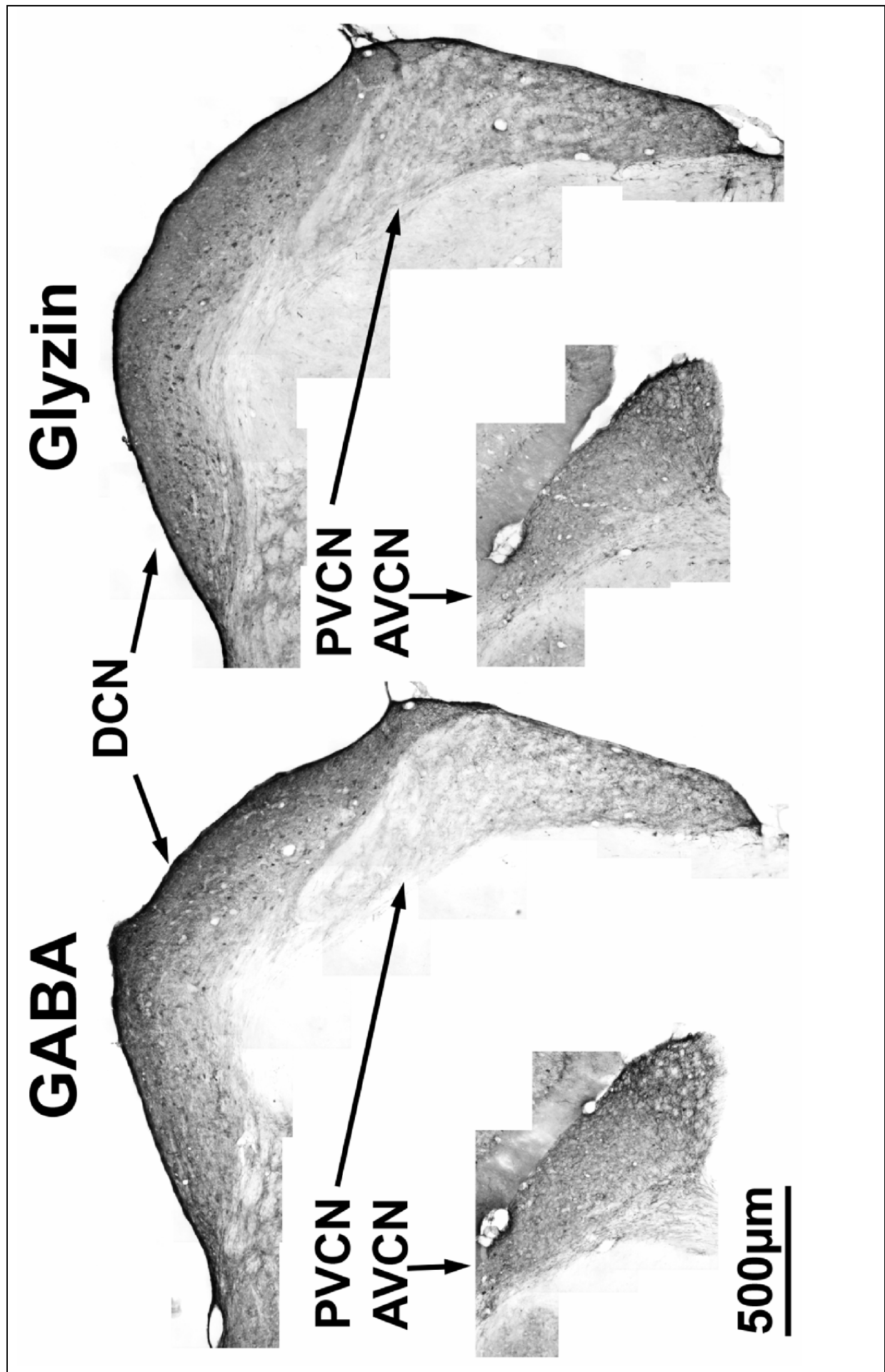


Abb. 3: Darstellung der für die Analyse ausgewählten Schnitte durch DCN/PVCN und AVCN für die GABA- und die Glyzinfärbung bei Tier 808. Der Maßstabsbalken entspricht 500µm.

2.3 Vermessung der Unterkerne

Mit den so digitalisierten Schnitten konnten nun die einzelnen Unterkerne DCN, PVCN und AVCN vermessen werden. Hierfür wurde das Programm PicEd Cora (Version 8.38, Jomesa Meßsysteme GmbH, München, Deutschland) benutzt.

Da die Größe einiger der zusammengesetzten Bilddateien des DCN/PVCN Komplexes über 50MB lag und diese von der Bildanalyse-Software nicht mehr verarbeitet werden konnte, wurde für die Vermessung der Querschnittsflächen die Dateigröße dadurch reduziert, dass im Photoshop die Auflösung halbiert wurde und so die Auflösung nun 0.698µm pro Pixel entsprach.

Mit Hilfe der Maus und der PicEd Cora Software konnte die gewünschte Fläche interaktiv umzeichnet werden und über die Anzahl der innerhalb der gezeichneten Fläche gelegenen Pixel die Fläche in µm² ausgegeben werden.

Im linken Teil der Abbildung 4 wurden die Grenzen von DCN, PVCN und AVCN in einem Beispiel dargestellt. Im rechten Teil sind diese Bereiche noch einmal schematisch gezeigt und jeweils separat gekennzeichnet.

Der DCN wurde unterhalb der fusiformen Zellschicht geteilt. Der obere Teil enthält die molekulare und die fusiforme Zellschicht und wird fortan nur als „molekulare Schicht“ bezeichnet. Die beiden äußeren Schichten werden in dieser Arbeit zusammengefasst, da eine genauere Abgrenzung in den immunhistochemisch gefärbten Schnitten nicht eindeutig möglich war. Der untere Teil stellt die tiefe Schicht dar. Die Gliederung des DCN in drei Schichten entspricht der Einteilung wie sie Brawer, Morrest und Kane 1974 für die Katze vorgenommen hatten. Für das Ziehen der Grenzen wurden hierfür auch entsprechende Schnitte der Nissl-Färbung zu Hilfe genommen. In der Schemazeichnung rechts neben dem Hirnschnitt sind die molekulare Schicht mit „m“ und die tiefe Schicht mit „t“ gekennzeichnet. Desweiteren

wurde der DCN entsprechend seiner tonotopen Organisation gleichmäßig in einen dorsalen, mittigen und ventralen Teil gedrittelt.

Im Folgenden wird kurz auf die Beschreibung der „tonotopen Gliederung“ eingegangen: Diese Dreiteilung wird für den DCN und den AVCN vorgenommen. Fasern des N. accusticus werden zum ersten Mal im Verlauf der Hörbahn im CN umgeschaltet. Das Faserbündel ist entsprechend ihres Innervationsgebietes in der Cochlea gegliedert. Hochfrequente Informationen werden in der Cochlea im basalen Teil und niedrigfrequente Informationen im apikalen Teil der Cochlea verarbeitet. Erreichen sie den CN, teilen sie sich und ziehen jeweils in den dorsalen (DCN) und ventralen (VCN) Teil des CN. Dabei wird die frequenzspezifische Gliederung der Fasern beibehalten. Fasern, die hochfrequente Informationen transportieren und vom basalen Teil der Cochlea stammen, ziehen in dorsale Bereiche der CN-Kerne; Fasern, die niedrigfrequente Informationen transportieren und vom apikalen Teil der Cochlea stammen, ziehen in ventrale Bereiche der CN-Kerne (Strutz 1987).

In der schematischen Darstellung in Abbildung 4 wurden hierfür römische Ziffern verwendet: „I“ entspricht dem dorsalen Bereich, der die hohen Frequenzen repräsentiert, „II“ bildet den mittigen Bereich mit den mittleren Frequenzen und „III“ steht für den ventralen Teil mit dem niederen Frequenzbereich des DCN. Die Flächeninhalte der so ermittelten 6 Teilbereiche des DCN wurden in einer Excel-Tabelle erfasst. Die Summe daraus ergab die Gesamtfläche des DCN.

Der angrenzende PVCN wurde ebenfalls mit der Maus umfahren. Aufgrund unterschiedlicher Dichtegrade und zytoarchitektonischer Unterschiede wurde der PVCN in zwei Bereiche aufgeteilt: einen dorsalen Teil mit geringer Neuronendichte mit Octopuszellen („d“) und einen ventralen Teil mit einer höheren Dichte an vorwiegend Multipolaren Zellen („v“) (Webster, 1982). Der Bereich der Granularzellen („g“) zwischen DCN und PVCN wurde separat erfasst.

Der AVCN, ebenfalls dargestellt in Abbildung 4, wurde entlang seiner tonotopen Organisation in gleichmäßige Flächenanteile gedrittelt. Somit erhielt man im AVCN einen dorsalen, hochfrequenten („I“), einen mittleren mittelfrequenten („II“) und einen ventralen tieffrequenten („III“) Teil.

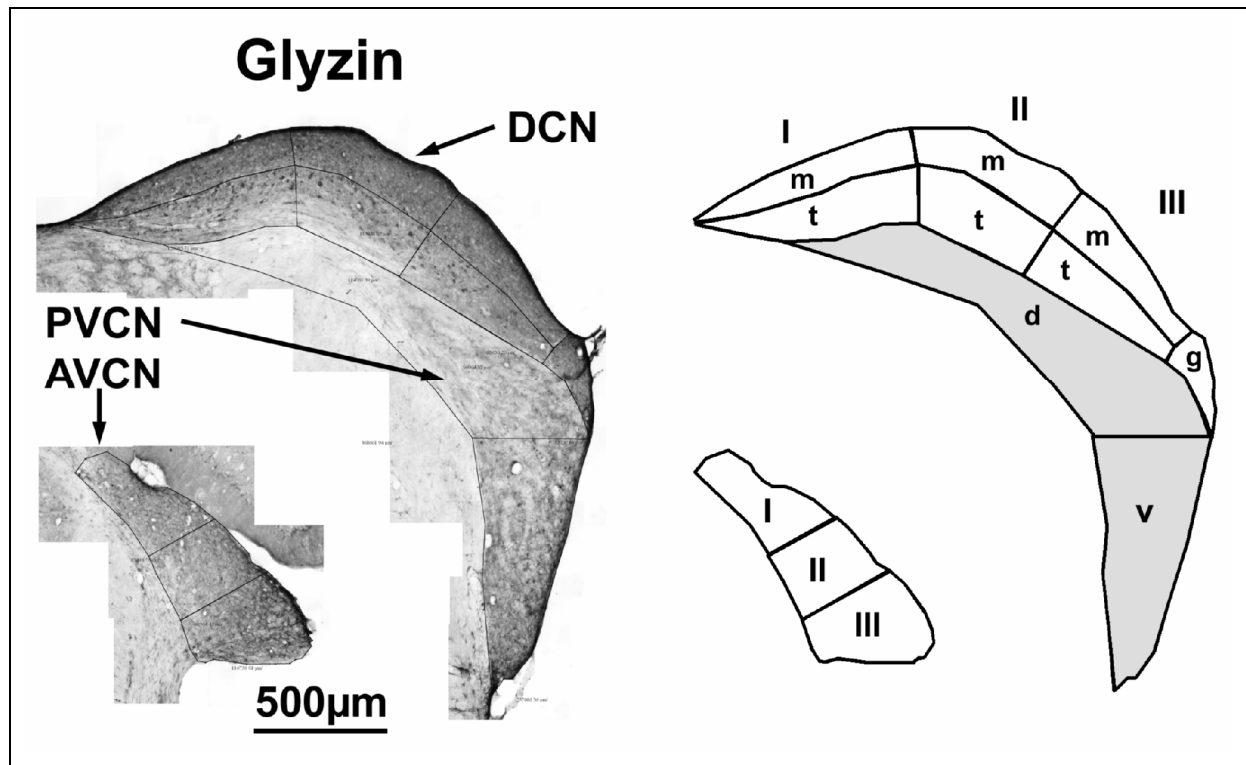


Abb. 4: Darstellung des DCN/PVCN und AVCN mit umfahrenen Einzelflächen. Die Schnitte entsprechen den Glyzinschnitten aus Abb. 3. Daneben sind die einzeln umfahrenen Teilbereiche schematisch dargestellt: Römische Ziffern stehen für die tonotope Gliederung (I= hoher Frequenzbereich, II= mittlerer Frequenzbereich, III= tiefer Frequenzbereich), diese Gliederung wurde für den DCN und den AVCN vorgenommen; m= molekulare Schicht des DCN; t= tiefe Schicht des DCN; g= Granularzellbereich; d= dorsaler Teil des PVCN; v= ventraler Teil des PVCN.

2.4 Zählung der Neurone

Zum Auszählen der einzelnen Neurone wurden sämtliche digitalisierten Schnitte mit einer Auflösung von 180 Pixel pro Inch ausgedruckt; dies entspricht bei einer Kantenlänge eines Pixels von 0.698µm einer 202-fachen Endvergrößerung. Die Ausdrücke wurden mit einem HP Design Jet 2500 CP -Drucker erzeugt.

Auf diesen Ausdrucken wurden dunkel gefärbte Zellkörper identifiziert, mit einem roten Filzschreiber markiert und für jeden der in Abbildung 4 dargestellten Teilbereiche separat ausgezählt.

Es sei angemerkt, dass bis zu diesem Zeitpunkt das jeweilige Alter der Tiere nicht bekannt war. Eine unvoreingenommene Auswertung der Tiere unabhängig von ihrem Alter war somit gewährleistet.

Für die tabellarische und grafische Auswertung der Daten wurde das Programm Microsoft Office Excel 2003 und für die statistische Analyse das Statistikprogramm SPSS (Version 12,0) verwendet.

C ERGEBNISSE

1. Altersbedingte Veränderungen der Querschnittsflächen von DCN, PVCN und AVCN

Die Diagramme 1A, 1B und 1C zeigen die Querschnittsflächen der drei Unterkerne des CN (DCN, PVCN, AVCN) in Abhängigkeit vom Alter. Bei jedem Tier wurde entweder ein rechter oder ein linker CN für die Analyse ausgewählt (Ausnahme Tier 764). Insgesamt wurde bei 12 Tieren der linke und bei 16 Tieren der rechte CN sowie bei Tier 764 ein rechter (Glyzinfärbung) und ein linker (GABA-Färbung) Schnitt ausgewertet. Bei 4 Tieren lagen Messungen nur von Glyzin und bei 11 nur von GABA gefärbten Schnitten vor. Bei den 14 Tieren, bei denen Messungen sowohl an GABA als auch an Glyzin gefärbten Schnitten durchgeführt wurden, ist hier der Mittelwert aus beiden Messungen gezeigt, so dass hier für die Abbildungen und die daraufhin durchgeführte statistische Auswertung pro Tier genau ein Messpunkt verwendet wurde. Somit ergaben sich insgesamt 11 „junge“ Tiere (4-16 Monate) und 18 „alte“ Tiere (36-57 Monate) zum Vergleich. Die dazugehörigen Werte finden sich in Tabelle 1 (die Einteilung der alten Tiere in Alt I und Alt II wird auf Seite 24 erklärt). In Tabelle 2 sind zu den jeweiligen Tieren die verwendete Färbung und die untersuchte Körperseite aufgeführt.

Die rein optische Beurteilung der Diagramme 1A und 1B lässt auf keine altersbedingte Änderung der Querschnittsfläche von DCN und PVCN schließen, die gestrichelt dargestellte Verbindungslinie der Gruppenmittelwerte von jungen und alten Tieren verläuft annähernd horizontal. Im Gegensatz dazu weisen einige alte Tiere beim AVCN deutlich reduzierte Querschnittsflächen auf (Diagramm 1C) und auch die Verbindungslinie der Gruppenmittelwerte weist auf eine Abnahme der AVCN-Querschnittsfläche bei alten Tieren hin.

Die Ergebnisse wurden mit zwei unterschiedlichen statistischen Verfahren ausgewertet. Da die Verteilung des Alters in der gesamten Stichprobe erheblich von der Normverteilung abwich, wurde der Einfluss des Alters auf die Querschnittsfläche nicht mit einer linearen, sondern mit der Spearman Rang Korrelation untersucht (siehe Tabelle 3). Im zweiten Ansatz wurde der Mann-Whitney-U Test benutzt, um

die Gruppe der jungen mit der Gruppe der alten Tiere zu vergleichen (siehe Tabelle 5).

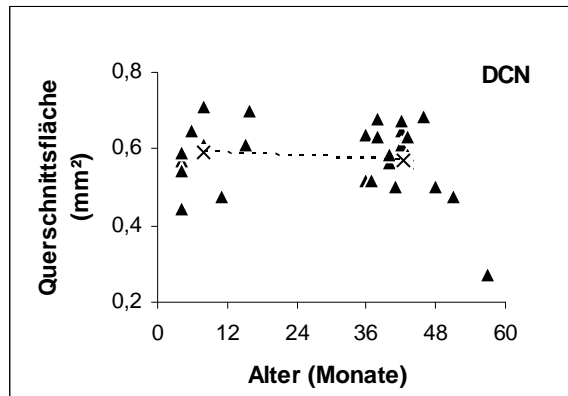
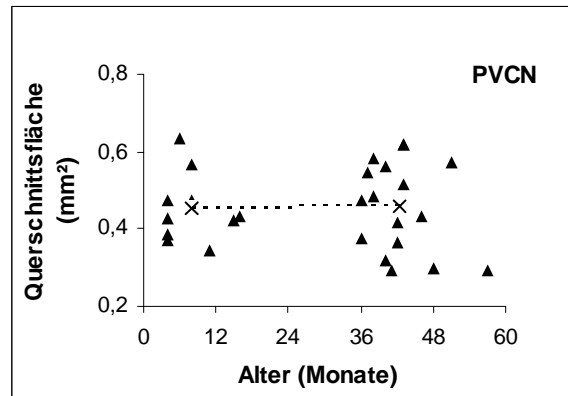
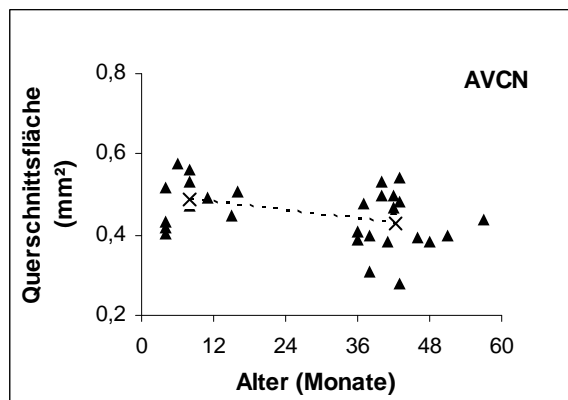
Mit der Spearman Rang Korrelation war bei keinem der CN-Unterkerne ein signifikanter Einfluss des Alters festzustellen. Obwohl beim AVCN mit einem Signifikanzwert von $p = 0,103$ ein Hinweis auf einen möglichen Trend bestand.

Tier (Nummer)	Alter (Monate)	DCN	PVCN	AVCN	Gruppe
697	4	0,57	0,43	0,52	1
713	4	0,45	0,47	0,41	1
718	4	0,55	0,38	0,42	1
727	4	0,59	0,37	0,43	1
666	6	0,65	0,63	0,58	1
710	8	0,71	0,47	0,53	1
711	8	0,60	0,46	0,56	1
838	8	0,61	0,57	0,47	1
760	11	0,48	0,35	0,49	1
705	15	0,61	0,42	0,45	1
768	16	0,70	0,43	0,51	1
702	36	0,52	0,48	0,39	3
798	36	0,64	0,38	0,41	2
764	37	0,52	0,55	0,48	2
805	38	0,64	0,48	0,40	3
808	38	0,68	0,59	0,31	3
759	40	0,57	0,32	0,50	2
793	40	0,58	0,56	0,53	2
819	41	0,50	0,29	0,38	3
762	42	0,65	0,45	0,47	2
763	42	0,61	0,37	0,45	2
815	42	0,67	0,42	0,50	2
785	43	0,63	0,62	0,48	2
786	43	0,56	0,62	0,54	2
822	43	0,59	0,52	0,28	3
795	46	0,68	0,43	0,39	3
827	48	0,50	0,30	0,38	3
839	51	0,48	0,57	0,40	3
782	57	0,27	0,29	0,44	2

Tab. 1: Mittlere Querschnittsfläche (mm²) von DCN, PVCN und AVCN für alle Gerbils. Bei Tieren bei denen Daten sowohl aus GABA als auch Glyzin gefärbten Schnitten vorlagen wurde der Mittelwert gebildet.
Gruppe 1: junge Tiere; Gruppe 2: Alt I; Gruppe 3: Alt II

Tier (Nummer)	Alter (Monate)	Färbung	Körperseite
697	4	GABA / Glyzin	li
713	4	GABA / Glyzin	re
718	4	Glyzin	li
727	4	GABA / Glyzin	li
666	6	GABA	li
710	8	GABA	re
711	8	GABA	li
838	8	GABA / Glyzin	re
760	11	Glyzin	li
705	15	GABA	re
768	16	GABA / Glyzin	re
702	36	GABA	li
798	36	GABA / Glyzin	li
764	37	GABA / Glyzin	li / re
805	38	GABA / Glyzin	li
808	38	GABA / Glyzin	re
759	40	GABA	re
793	40	GABA / Glyzin	re
819	41	GABA / Glyzin	li
762	42	GABA / Glyzin	re
763	42	Glyzin	re
815	42	GABA	li
785	43	GABA	re
786	43	GABA / Glyzin	re
822	43	GABA / Glyzin	re
795	46	GABA	re
827	48	GABA	re
839	51	GABA	li
782	57	Glyzin	li

Tab. 2: Auflistung für jedes Tier der untersuchten Färbung und der verwendeten Körperseite. Bei 14 Tieren wurde sowohl die GABA- als auch die Glyzinfärbung untersucht. Beim Tier mit der Nummer 764 wurden beide Färbungen untersucht, wobei bei GABA die linke und bei Glyzin die rechte Körperseite untersucht wurde.

**A****B****C**

Diagr. 1: Darstellung der Querschnittsflächen (mm²) entsprechend dem Alter für den DCN (A), PVCN (B) und AVCN (C). Unterschiede zwischen den beiden immunhistochemischen Färbungen wurde hier nicht gemacht. Die dazugehörigen Werte finden sich in Tabelle 1. Die gestrichelte Linie verbindet die Gruppen-Mittelwerte der jungen und der alten Tiere.

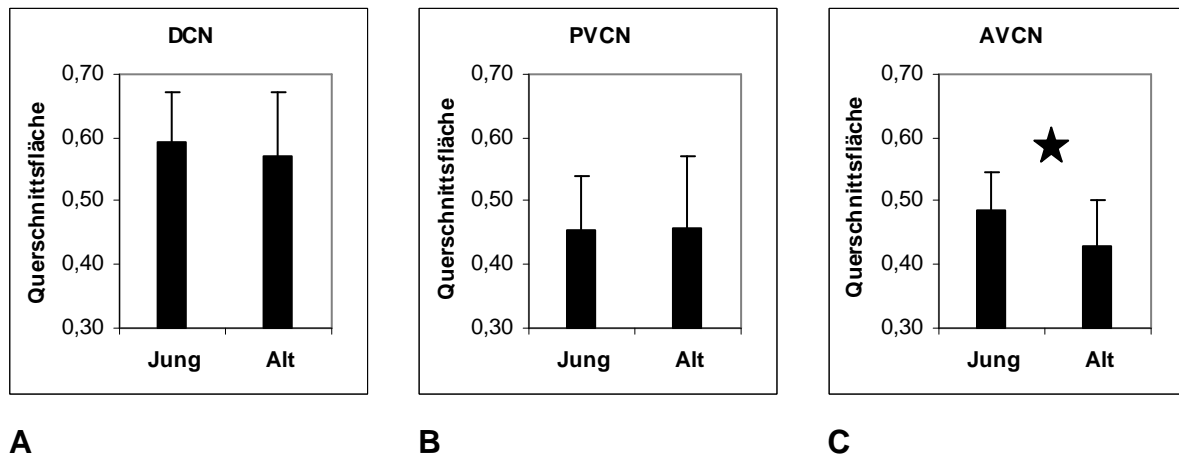
Spearman Rang Korrelation

	DCN	PVCN	AVCN
Einfluss des Alters N=29	0,622	0,898	0,103

Tab. 3: Statistische Auswertung der Korrelation zwischen Alter und Querschnittsfläche von DCN, PVCN und AVCN. In der Tabelle sind die jeweiligen p-Werte angegeben. Die Wahrscheinlichkeiten liegen in dieser Stichprobe für jeden Unterkern des CN über dem Signifikanzniveau von 0,05.

Im Diagramm 2A, 2B und 2C wird der Vergleich der Gruppenmittelwerte (und Standardabweichungen) von jungen und alten Tieren in einem Säulendiagramm wiedergegeben. Die dazugehörigen Werte finden sich in Tabelle 4.

Die Querschnittsflächen des DCN verkleinern sich im Alter im Mittel um 5% und die Flächen des PVCN nehmen sogar um 2% zu. Am stärksten nehmen die Querschnittsflächen des AVCN mit 12 % im Mittel ab. Diese Änderung bestätigt sich nach dem Mann-Whitney-U Test als signifikant ($p=0,035$). Die Querschnittsflächen des DCN und des PVCN zeigen keine signifikante Änderung mit dem Alter (vergleiche Tabelle 5).



Diagr. 2: Vergleich der mittleren Querschnittsflächen junger mit alten Gerbils für den DCN (A), PVCN (B) und AVCN (C) im Säulendiagramm. Standardabweichungen sind als Striche angegeben. Die dazugehörigen Werte finden sich in Tabelle 4. (Schwarzer Stern= signifikanter Unterschied, $p < 0.05$)

	Alter (Monate)	DCN	PVCN	AVCN
Jung N=11	8+/-4,16	0,60+/-0,08	0,45+/-0,08	0,49+/-0,06
Alt N=18	42,39+/-5,25	0,57+/-0,10	0,46+/-0,11	0,43+/-0,07
Alt I N=10	42,63+/-5,34	0,57+/-0,11	0,46+/-0,12	0,48+/-0,04
Alt II N=8	42,20+/-5,73	0,57+/-0,08	0,46+/-0,11	0,37+/-0,05

Tab. 4: Mittleres Alter und mittlere Querschnittsflächen mit Standardabweichungen (mm²)

Mann-Whitney-U Test

	DCN	PVCN	AVCN
Einfluss des Alters N=29	0,707	0,912	<u>0,035</u>

Tab. 5: Statistischer Vergleich der Querschnittsfläche von DCN, PVCN und AVCN zwischen jungen und alten Tieren. In der Tabelle sind die jeweiligen p-Werte angegeben. Nur beim AVCN zeigt sich mit einem Signifikanzniveau von unter 0,05 eine signifikante altersbedingte Reduktion der Querschnittsfläche bei alten im Vergleich zu jungen Tieren (fett/unterstrichen).

Bei der Betrachtung von Diagramm 1C, erkennt man für die Querschnittsflächen des AVCN alter Gerbils eine größere Streubreite, als bei den jungen: Die Flächen junger Tiere liegen zwischen 0,41mm² und 0,58mm², die der alten zwischen 0,28mm² und 0,54mm². Es gibt also alte Tiere, deren AVCN-Querschnittsfläche im Größenbereich junger Tiere liegen. Ebenso gibt es aber alte Tiere, deren AVCN-Querschnittsfläche die Werte junger Tiere nicht mehr erreichen. Diese alten Tiere scheinen im Hinblick auf ihre AVCN-Querschnittsfläche „beeinträchtigt“ zu sein.

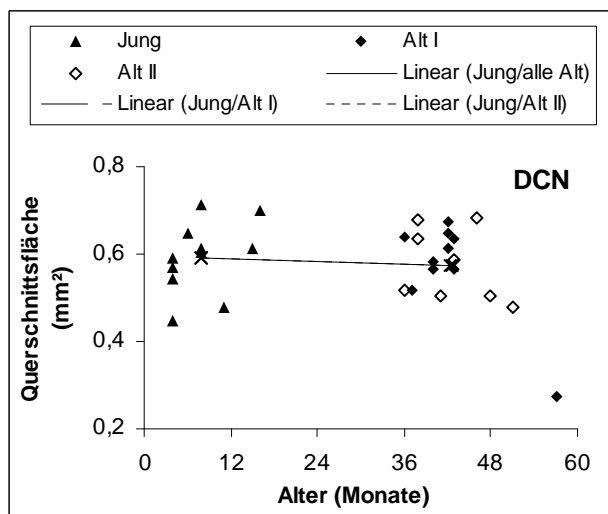
Da der kleinste Wert für die Querschnittsfläche des AVCN bei den jungen Tieren 0.41mm² war, wurde ein Wert von 0.4 mm² gewählt, um die alten Tiere in „normale“ und „beeinträchtigte“ Gruppen zu unterteilen. Die alten Tiere werden in zwei Gruppen geteilt: einmal die 8 Tiere, deren AVCN-Querschnittsfläche im Alter im Vergleich zu den jungen Tieren deutlich kleiner wird (künftig **Alt II** genannt), zum anderen die 10 Tiere, deren AVCN-Querschnittsfläche im Alter im Vergleich zu jungen Tieren gleich bleibt (künftig **Alt I** genannt). Die Mittelwerte der Querschnittsflächen und deren Standardabweichung sind in Tabelle 4 aufgelistet. Zusätzlich ist für jede Gruppe das mittlere Alter angegeben. Das mittlere Alter der Tiere in Gruppe Alt I (42,20 +/- 5.73 Monate) entspricht dem der Tiere in Gruppe Alt II (42.63 +/- 5.34 Monate).

Die Diagramme 3A, 3B und 3C entsprechen inhaltlich den Diagrammen 1A, 1B und 1C. Hier wurden lediglich die beiden Altersgruppen Alt I und Alt II optisch unterschieden. Die „schwarzen“ Rauten entsprechen der Gruppe Alt I („normale“ Tiere) und die „weißen“ der Gruppe Alt II („beeinträchtigte“ Tiere). Zusätzlich wurde der Flächenmittelwert aller jungen Tiere mit dem Flächenmittelwerte aller alten Tiere (durchgezogene Linie) verbunden und ebenso mit dem der Gruppe Alt I (gestrichelte Linie) bzw. Alt II (gepunktete Linie).

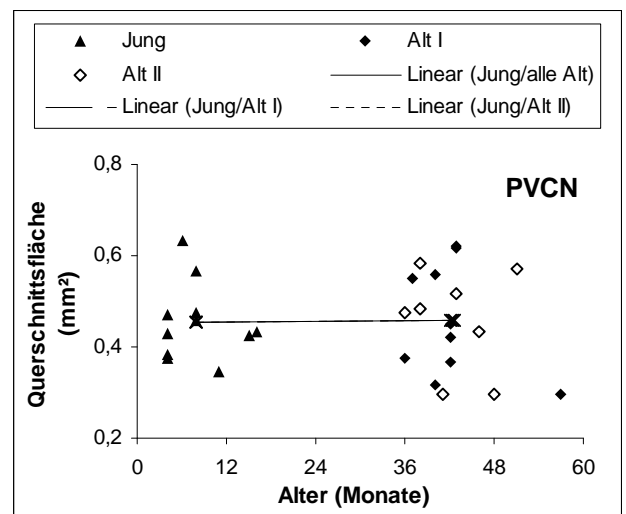
Im Diagramm 3C sieht man jetzt deutlich den Unterschied der Flächenwerte, den die Gruppe Alt II zur Gruppe der jungen Tiere („schwarze“ Dreiecke) aufweist. Die Gruppe Alt I hat ähnlich hohe Flächenwerte wie die jungen Tiere (siehe auch Tabelle 5).

Einen deutlichen Unterschied der Flächenmittelwerte zeigt auch die starke Divergenz der gestrichelten und gepunkteten Linien, die den Flächenmittelwert junger Tiere mit denen von Alt I bzw. Alt II verbinden.

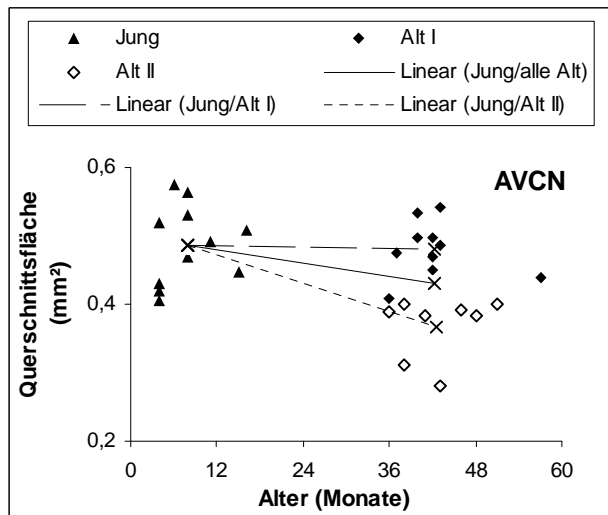
In den Diagrammen 3A und 3B sind für den DCN und den PVCN diejenigen alten Tiere, deren AVCN-Fläche im Alter kleiner wird (Alt II) ebenfalls durch weiße Rauten markiert. Eine systematisch unterschiedliche Verteilung wie im AVCN ist in den Querschnittsflächen von DCN und PVCN nicht zu erkennen. Wie Tabelle 4 zeigt, gibt es im DCN und PVCN keine wesentlichen Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen. Die Verbindungslinien des Flächenmittelwertes junger Tiere mit dem von Alt I (gestrichelte Linie) und Alt II (gepunktete Linie) in den Diagrammen 3A und B kommen direkt übereinander zu liegen. Die Größe der Querschnittsflächen von DCN und PVCN stehen in keinem ersichtlichen Zusammenhang mit der „Flächenschrumpfung“ des AVCN mancher alter Tiere. Das kann bedeuten, dass es zwischen den CN Unterkernen unabhängige und unterschiedliche pathologische Veränderungen im Alter gibt.



A



B



C

Diagr. 3: Darstellung der Querschnittsflächen (mm²) entsprechend dem Alter für den DCN(A), PVCN(B) und AVCN(C). Die drei Altersgruppen Jung, Alt I und Alt II werden hier optisch unterschieden. Die dazugehörigen Werte finden sich in Tabelle 1. Der Gruppenmittelwert aller jungen Tiere ist durch eine Linie mit dem Gruppenmittelwert aller alten Tiere und dem von Alt I bzw. Alt II verbunden (vergleiche hierzu die Legende). Für den AVCN (C) wird deutlich, dass sich die Mittelwerte von Alt I und Alt II deutlich voneinander unterscheiden. Beim DCN (A) und PVCN (B) gibt es keinen Unterschied zwischen Alt I und Alt II. Die Mittelwertslinien kommen hier übereinander zu liegen und sind somit nicht zu unterscheiden.

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse nur eine Abnahme der mittleren AVCN-Querschnittsfläche bei alten Tieren. Im DCN und im PVCN konnten keine statistisch signifikanten Veränderungen der Querschnittsfläche zwischen jungen und alten Gerbils nachgewiesen werden (Diagramm 2).

Eine genauere Betrachtung der Querschnittsflächen alter Tiere zeigte, dass ein Teil der alten Tiere AVCN Querschnittsflächen aufwies, die unterhalb der Werte von jungen Tieren lagen (Diagramm 3C). Es gibt also alte Tiere, bei denen der AVCN „beeinträchtigt“ erscheint, während einige alte Tiere „normal“ erschienen. Dies bestätigt eine Unterteilung der alten Tieren in 2 Gruppen, die darauf basiert, dass der kleinste Wert, der bei jungen Tieren aufgetreten war, als Grenze festgelegt wurde: **Alt I**, Tiere, deren Querschnittsfläche im Vergleich zu jungen Tieren unverändert bleibt und **Alt II**, Tiere, deren Fläche im Alter deutlich schwindet. Bei den alten Tieren mit einer reduzierten Querschnittsfläche des AVCN finden sich keine entsprechenden

Änderungen in DCN oder PVCN (Diagramm 3). Es erscheint nur der AVCN bei einigen alten Tieren beeinträchtigt.

In allen weiteren Überlegungen und statistischen Berechnungen dieser Arbeit, die sich auf Effekte der Altersabhängigkeit beziehen, werden diese zwei Gruppen der alten Tiere stets gesondert betrachtet, um eventuelle Zusammenhänge zu erkennen.

2. Altersbedingte Veränderung im AVCN

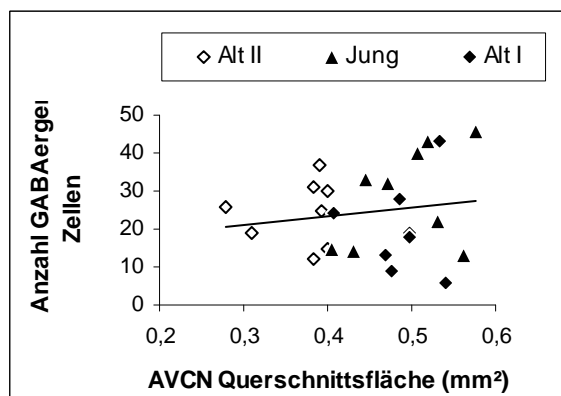
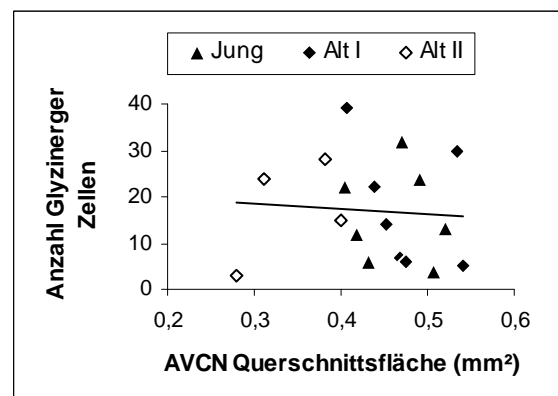
2.1 Untersuchung der Anzahl GABAerger und glyzinerger Neurone im AVCN

Für die Untersuchung der Anzahl GABAerger und glyzinerger Neurone wurden insgesamt 29 Schnittserien ausgewertet. Bei 14 dieser Tiere konnte sowohl die GABA- als auch die Glyzinfärbung untersucht werden. Mit einer Ausnahme konnte stets auch die gleiche Körperseite verwendet werden. Bei 11 Tieren wurde nur die GABA-Färbung und bei 4 nur die Glyzinfärbung untersucht. Somit ergaben sich 25 Tiere mit der GABA-Färbung. Davon können 9 den jungen und 16 den alten Tieren zugeordnet werden. Insgesamt 18 Tiere wurden mit der Glyzinfärbung untersucht, davon stammen 7 von jungen und 11 von alten Tieren.

Bevor Untersuchungen eines altersabhängigen Effekts GABAerger und glyzinerger Neuronenzahlen im AVCN gestartet werden, soll festgestellt werden, ob die Anzahl der Neurone beider Färbungen mit den Querschnittsflächen korrelieren, also bei Tieren mit kleiner Querschnittsfläche weniger inhibitorische Neurone gefunden werden als bei Tieren mit großer Querschnittsfläche. Zu diesem Zweck wurde den Querschnittsflächen jedes Tieres die entsprechende Anzahl an Neuronen, die sie enthalten, gegenübergestellt. Diagramm 4A enthält die Werte der 25 Tiere mit der GABAFärbung und Diagramm 4B die Werte der 18 Tiere mit der Glyzinfärbung. Die jungen Tiere und die Tiere der Altersgruppen Alt I und Alt II sind mit entsprechenden Symbolen gekennzeichnet. Die Regressionslinien sind zur besseren Beurteilung eingezeichnet. Die Werte sind den Tabellen 1 und 6 entnommen.

Im Diagramm 4A könnte man anfänglich durch den leichten Anstieg der Regressionslinie einen Zusammenhang zwischen Querschnittsfläche und der jeweiligen Anzahl an Neuronen vermuten. Also Tiere mit kleiner AVCN-Querschnittsfläche enthalten wenig GABAerge Neurone. Es fällt jedoch auf, dass Querschnittsflächen von Tieren mit Flächen unter 0,4mm² (weiße Rauten) minimal 12 und maximal 37 Neurone enthalten, wobei Tiere mit den größten Querschnittsflächen (> 0,54 mm²) eine Spanne von 6 bis 46 Neuronen aufweisen. Ein systematischer Zusammenhang von Fläche und Anzahl GABAerger Neurone ist nicht zu erkennen. Ebenso wird deutlich, dass die Streuung der einzelnen Punkte um die Regressionslinien sehr groß ist. Im Diagramm 4B lässt die Anordnung der Datenpunkte keinen systematischen Zusammenhang von Querschnittsfläche und Anzahl glyzinerger Neurone erkennen.

Für statistische Berechnungen wird die Spearman Rang Korrelation verwendet. Beim Vergleich der Querschnittsflächen mit der Anzahl an Neurone ergeben sich für beide Färbungen keine signifikanten Werte. Mit einem Korrelationskoeffizienten von $r^2 = 0,0088$ und einer Stichprobenmenge von $N=25$ für die GABAFärbung ergibt sich kein signifikanter Wert ($p = 0.655$). Für die Glyzinfärbung ist die Stichprobengröße sogar noch geringer ($N=18$, $r^2 = 0,0240$, $p = 0.540$). Wie der Test zeigt, gibt es keinen Zusammenhang zwischen den Querschnittsflächen und der Anzahl GABAerger- und glyzinerger Neurone im AVCN.

**A****B**

Diagr. 4: Darstellung der Anzahl GABAerger (A) und glyzinerger (B) Neurone in Abhängigkeit von der Querschnittsfläche. Die Altersgruppen Jung, Alt I und Alt II sind durch unterschiedliche Symbole gekennzeichnet. Zur besseren Beurteilung sind Regressionslinien eingezeichnet. Die Werte sind den Tabellen 1 und 6 entnommen.

Bei den statistischen Analysen zur Untersuchung einer altersabhängigen Änderung der Anzahl an Neurone werden zuerst die jungen Tiere mit allen alten verglichen. Anschließend werden die jungen Tiere separat mit den beiden Altersgruppen Alt I und Alt II verglichen, um zu sehen, ob sich speziell für diese Tiere die Anzahl der Neurone ändert. Der Einfluss des Alters auf die Anzahl der Neurone wird zuerst mit der Spearman Rang Korrelation analysiert. Anschließend werden mit dem Mann-Whitney-U Test nochmals Gruppenvergleiche von jungen mit allen alten Tieren vorgenommen. Der Kruskal-Wallis Test, der die Mittelwerte der Neuronenzahl in den Gruppen junge Tiere, Alt I und Alt II in einem Dreivergleich untersucht, soll anschließend zeigen, ob es hier signifikante Unterschiede gibt und ob anschließend weitere Vergleiche mit dem Mann-Whitney-U Test zwischen den einzelnen Altersgruppen noch zulässig sind. Sämtliche Tests werden jeweils für beide Färbungen durchgeführt.

In den Diagrammen 5A und 5B sind die Zahlen GABAerger und glyzinerger Neurone als Funktion des Alters aufgetragen. Dabei wurden die beiden Gruppen Alt I und Alt II durch unterschiedliche Symbole gekennzeichnet. Ebenso sind die Mittelwerte der einzelnen Gruppen durch entsprechende Linien verbunden. Die einzelnen Werte zu Alter und Zellzahl finden sich für GABA in Tabelle 6A und für Glyzin in Tabelle 6B. Vergleicht man beide Diagramme 5A und 5B, fällt für GABA eine Abnahme der mittleren Anzahl GABAerger Neurone bei alten Tieren auf. Die eingezeichneten Linien verbinden jeweils den Mittelwert aller jungen Tiere mit dem aller alten Tieren (durchgezogene Linie) und dem der Gruppe Alt I (gestrichelte Linie) bzw. Alt II (gepunktete Linie). Diese Linien dienen als Hilfslinien und weichen deutlich von der horizontalen ab. Dagegen bleiben diese Linien bei Glyzin annähernd horizontal und fallen so aufeinander, dass sie im Diagramm kaum unterscheidbar sind. Dies lässt die Vermutung zu, dass die Anzahl GABAerger Neurone im AVCN mit dem Alter abnimmt. Jedoch ergaben sich bei der statistischen Untersuchung mittels der Spearman Rang Korrelation in dieser Stichprobe, dass diese Abnahme nicht signifikant war ($p=0,142$; $N=25$). Der hohe Wert von $p=0,632$ ($N=18$) für Glyzin bestätigt den Eindruck, dass es zwischen der Anzahl glyzinerger Neurone junger und alter Tiere keinen altersabhängigen Effekt gibt. Beide Ergebnisse sind in Tabelle 7 aufgelistet.

Die Anzahl GABAerger Neurone der Gruppe Alt I (schwarze Rauten) scheint im Diagramm 5A innerhalb der alten Tiere stärker abzunehmen, als die der Gruppe Alt II (weiße Rauten). Diese Verteilung der Gruppe Alt I könnte auf einen signifikanten Unterschied der Anzahl GABAerger Neurone junger Tiere und Tiere der Gruppe Alt I hindeuten. Überprüft man, ob die Zellzahlen GABAerger Neurone unter Berücksichtigung der jungen Tiere und entweder der Gruppe Alt I oder Alt II signifikant vom Alter abhängen, zeigt die Spearmann Rang Korrelation in diesen kleineren Stichproben keine signifikanten Unterschiede: $p(\text{Jung/Alt I})=0,278$; $p(\text{Jung/Alt II})=0,385$. In der vorliegenden Stichprobe liegt also kein signifikanter Einfluss des Alters auf die Anzahl GABAerger Zellen vor.

Im Diagramm 5B ist keine unterschiedliche Verteilung der Anzahl glyzinerger Neurone der beiden Gruppen Alt I und Alt II im Vergleich zu jungen Tieren erkennbar. Bei Berechnungen nach der Spearmann Rang Korrelation, die den Einfluss des Alters auf die Anzahl glyzinerger Neurone von Jung unter Einbeziehung von Alt I bzw. Alt II bestimmt, ergeben sich keine signifikanten Werte. Die Ergebnisse dazu finden sich in Tabelle 7.

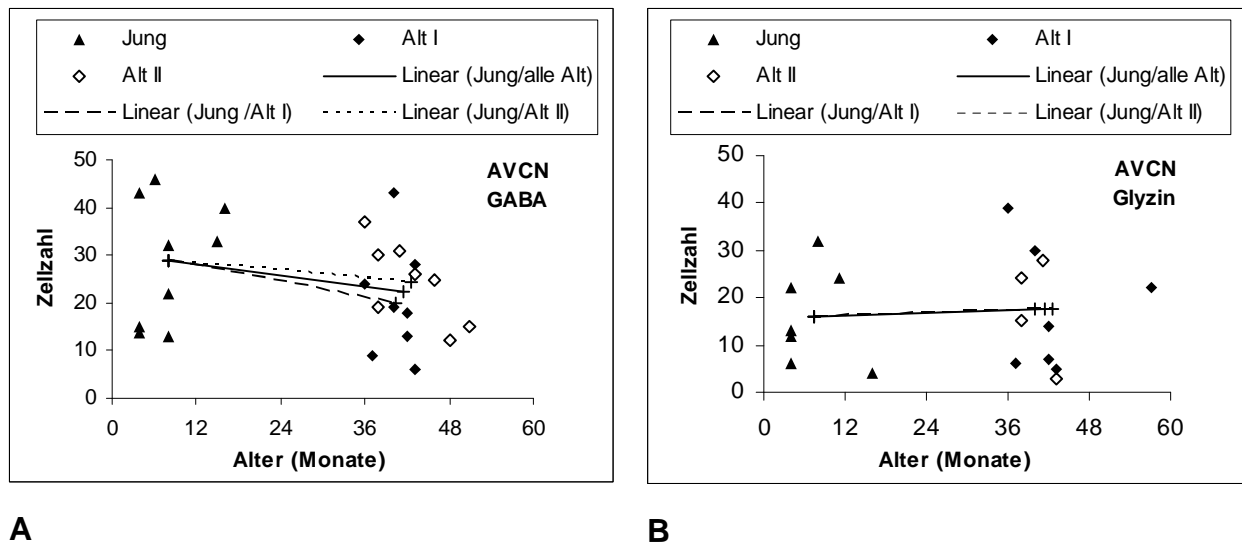
Tier (Nummer)	Alter (Monate)	AVCN	Gruppe
697	4	43	1
713	4	15	1
727	4	14	1
666	6	46	1
710	8	22	1
711	8	13	1
838	8	32	1
705	15	33	1
768	16	40	1
702	36	37	3
798	36	24	2
764	37	9	2
805	38	30	3
808	38	19	3
759	40	19	2
793	40	43	2
819	41	31	3
762	42	13	2
815	42	18	2
785	43	28	2
786	43	6	2
822	43	26	3
795	46	25	3
827	48	12	3
839	51	15	3

A

Tier (Nummer)	Alter (Monate)	AVCN	Gruppe
697	4	13	1
713	4	22	1
718	4	12	1
727	4	6	1
838	8	32	1
760	11	24	1
768	16	4	1
798	36	39	2
764	37	6	2
805	38	15	3
808	38	24	3
793	40	30	2
819	41	28	3
762	42	7	2
763	42	14	2
786	43	5	2
822	43	3	3
782	57	22	2

B

Tab. 6: Auflistung der Zellzahlen im AVCN entsprechend dem Alter für GABA (A) und Glyzin (B).
Gruppe 1: junge Tiere; Gruppe 2: Alt I; Gruppe 3: Alt II.



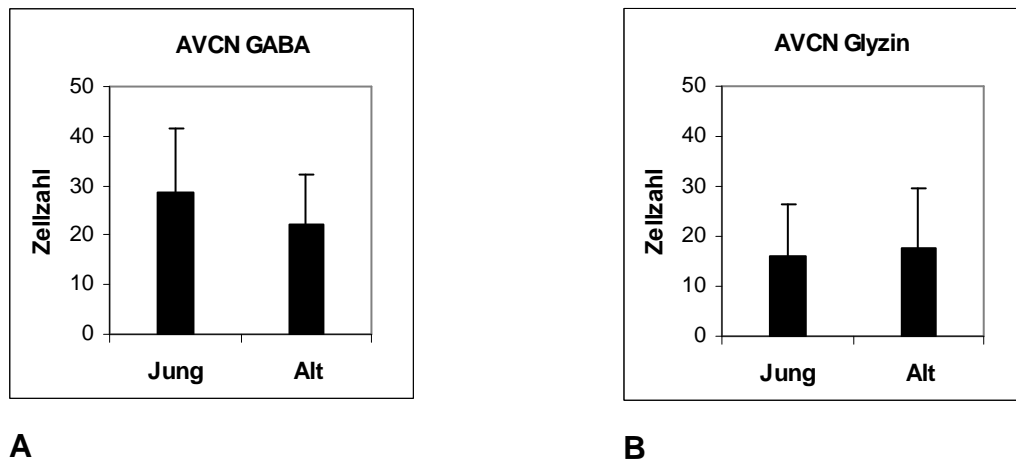
Diagr. 5: Darstellung der mittleren Zellzahlen des AVCN für GABA (A) und für Glyzin (B), entsprechend dem Alter. Die dazugehörigen Werte finden sich in Tabelle 6. Die Linien verbinden die Mittelwerte der einzelnen Gruppen (vergleiche dazu die Legende).

Spearman Rang Korrelation

	GABA	Glyzin
Jung / alle Alten	0,142	0,632
Jung / Alt I	0,278	0,850
Jung / Alt II	0,384	0,875

Tab. 7: Statistische Auswertung, inwieweit das Alter mit der Anzahl GABAerger bzw. glyzinerger Neurone im AVCN korreliert. Die Tabelle listet die p-Werte und zeigt, dass in keiner dieser Korrelationen eine Wahrscheinlichkeit unter 0,05 erreicht wurde und somit kein signifikanter Effekt des Alters auf die Anzahl der GABAergen und glyzinerger Zellen feststellbar war.

In den Säulendiagrammen 6A und 6B sind die Mittelwerte und Standardabweichungen der Anzahl GABAerger bzw. glyzinerger Neurone junger und aller alter Tiere gegenübergestellt. Hier wird deutlich, dass im Mittel die Anzahl GABAexprimierender Neurone im Alter um 23% abnimmt und die Zellzahlen glyzinerger Neurone dagegen leicht um 8% zunimmt. Die Analyse mit dem Mann-Whitney-U Test zeigt aber genau wie die Spearmann Rang Korrelation (vergleiche Tabelle 7), dass in den vorliegenden Stichproben diese Unterschiede statistisch nicht signifikant sind (vergleiche Tabelle 8).



Diagr. 6: Gegenüberstellung der Mittelwerte mit Standardabweichungen der Anzahl GABAerger (A) und glyzinerger (B) Neurone junger und aller alten Tiere im AVCN.

Mann-Whitney-U Test

	GABA	Glyzin
Jung / alle Alten	0,207	0,791

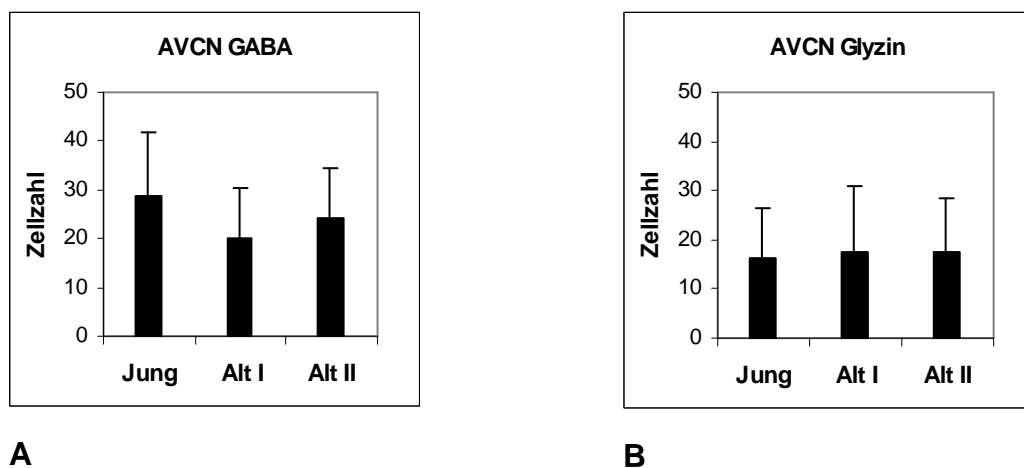
Tab. 8: Statistische Auswertung des Zellzahlenvergleichs GABAerger bzw. glyzinerger Neurone im AVCN zwischen jungen und allen alten Tieren. Die Tabelle listet die p-Werte und zeigt, dass in keinem dieser Vergleiche eine Wahrscheinlichkeit unter 0,05 erreicht wurde und somit kein signifikanter Unterschied der Anzahl der GABAerger bzw. glyzinerger Zellen zwischen den jungen und alten Tieren feststellbar war.

In den Säulen-Diagrammen 7A und 7B sind die Mittelwerte und Standardabweichungen der jungen Tiere, den Mittelwerten beider Gruppen Alt I und Alt II gegenübergestellt.

Hier zeigt sich im Diagramm 7A, dass die Abnahme der Anzahl GABAerger Neurone alter Tiere in der Gruppe Alt I stärker ausgeprägt erscheint als in der Gruppe Alt II. Die mittlere Zellzahl nimmt bei Alt I im Vergleich zu jungen Tieren um 30% ab. Die Anzahl der Neurone von Alt II nimmt im Mittel nur um 14% ab. Die Anzahl glyzinerger Neurone (vergleiche Diagramm 7B) von Alt I und Alt II nehmen beide im Mittel um 9% bzw. 8% zu. Der Kruskal-Wallis Test zeigt keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen, weder für die GABA-Färbung ($p=0,296$) noch für die Glyzinfärbung ($p=0,963$). Einen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den drei Gruppen Jung, Alt I und Alt II gibt es also für beide Färbungen nicht. Weitere paarweise Vergleiche der Mittelwerte zwischen Jung und Alt I, Jung und Alt II oder

auch Alt I und Alt II sind somit nicht mehr zulässig. Die p-Werte des Kruskal-Wallis Tests sind in Tabelle 9 aufgeführt.

Zusammenfassend zeigen beide Tests, die Spearman Rang Korrelation und der Kruskal-Wallis Test, dass das Alter keinen statistisch signifikanten Einfluss auf die Anzahl der GABAergen und glyzinerger Neurone im AVCN hat (Tab. 7, 8 und 9). Allerdings weisen die Diagramme 5, 6 und 7 darauf hin, dass bei einer größeren Stichprobe möglicherweise eine Abnahme der Anzahl GABAerger Neurone bestätigt werden könnte während dies für Glyzin auch bei einer größeren Stichprobe nicht zu erwarten ist.



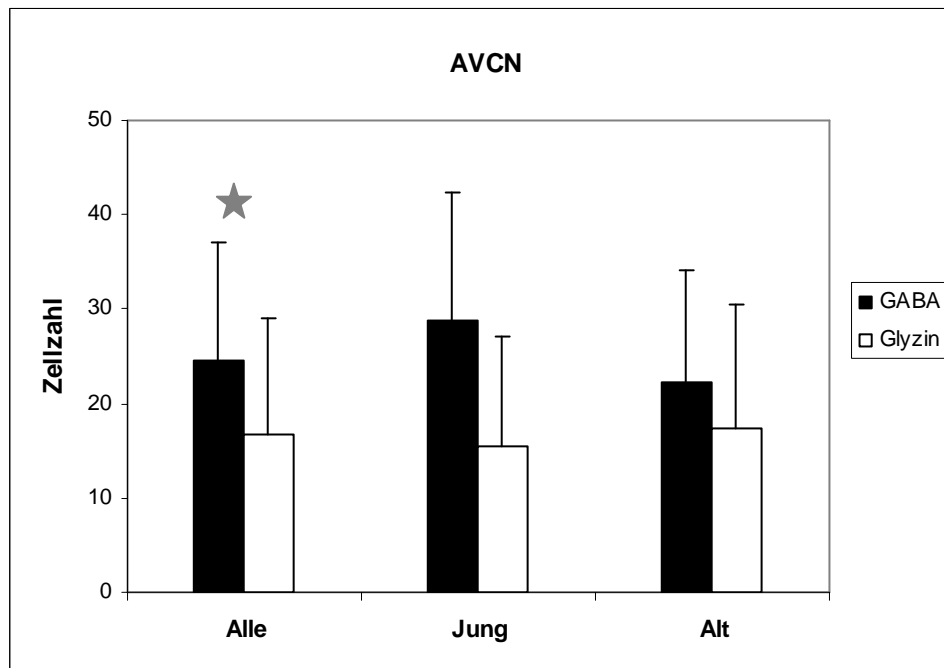
Diagr. 7: Gegenüberstellung der Mittelwerte mit Standardabweichungen der Zellzahlen GABAerger (A) und glyzinerger (B) Neurone der Gruppe der jungen Tiere, der Gruppe Alt I und der Gruppe Alt II im AVCN.

Kruskal-Wallis Test

	GABA	Glyzin
Jung / Alt I / Alt II	0,296	0,963

Tab. 9: Statistische Auswertung des Zellzahlenvergleichs GABAerger bzw. glyzinerger Neurone im AVCN zwischen jungen Tieren, Tieren der Gruppe Alt I und Alt II. Die Tabelle listete die p-Werte und zeigt, dass in keinem dieser Vergleiche eine Wahrscheinlichkeit unter 0,05 erreicht wurde und somit kein signifikanter Unterschied der Anzahl der GABAerger bzw. glyzinerger Zellen innerhalb den drei Gruppen Jung, Alt I und Alt II feststellbar war. Weiterführende Tests zum Vergleich der einzelnen Gruppen untereinander sind somit nicht mehr zulässig.

Vergleicht man bei den Diagrammen 6A und 6B die Größe der Zellzahlmittelwerte GABAerger und glyzinerger Neurone, fällt auf, dass es für junge und alte Tiere mehr GABAerge Neurone gibt. Zum besseren Vergleich werden im Säulendiagramm 8 Mittelwerte und Standardabweichungen GABAerger und glyzinerger Neuronenzahlen gegenübergestellt. Bei den vorliegenden Daten werden für eine statistische Analyse nur diejenigen 14 Tiere herangezogen, bei denen beide Färbungen untersucht wurden. Die Werte dazu finden sich in Tabelle 10. Der Vergleich wurde für alle Tiere und zusätzlich separat für die jungen und alten Tiere durchgeführt. Hier zeigt sich deutlich, dass die Anzahl GABAexprimierender Neurone bei allen Tieren deutlich höher ist, als die Anzahl glyzinexprimierender Neurone. Dies ist auch bei allen jungen und allen alten Tieren der Fall. Zur statistischen Untersuchung wird hier der Wilcoxon-Test zum Paarvergleich zweier verbundener Stichproben verwendet. Beim Vergleich über alle Tiere hinweg zeigt der Wilcoxon-Test einen Wert von $p=0,069$ (siehe Tabelle 11). Dies bedeutet, dass der Unterschied zwischen der Anzahl GABAerger und glyzinerger Neurone die Wahrscheinlichkeit von 0.05 nur knapp verfehlt, weist aber auf einen Trend für eine höhere Anzahl GABAerger im Vergleich zu glyzinerger Neurone im AVCN hin. Führt man diese Analyse separat für die jungen bzw. alten Tiere durch, ergeben sich aufgrund der geringeren Stichprobengröße keine signifikanten Unterschiede. Eine weitere Aufteilung in Alt I bzw. Alt II erübrigt sich, weil dann die Stichprobengröße mit $N=5$ für Alt I bzw. $N=4$ für Alt II betragen würde.



Diagr. 8: Gegenüberstellung der Mittelwerte mit Standardabweichungen der Anzahl GABAerger und glyzinerger Neurone für alle Tiere (N = 14), alle jungen (N = 5) und alle alten Tiere (N = 9) im AVCN. Die dazugehörigen Werte finden sich in Tabelle 11. (Grauer Stern= Unterschied der Anzahl an Neuronen mit tendenzieller Wahrscheinlichkeit, da $p < 0.1$)

	GABA	Glyzin
Alle	24,64+/- 12,41	16,71+/- 12,22
Jung	28,80+/- 13,66	15,40+/- 11,64
Alt	22,33+/- 11,83	17,44+/- 13,16

Tab. 10: Auflistung der Mittelwerte mit Standardabweichungen der Anzahl GABAerger und glyzinerger Neurone für alle Tiere (N = 14), alle jungen (N = 5) und alle alten Tiere (N = 9) im AVCN.

Wilcoxon-Test

	GABA/Glyzin
Alle	0,069
Jung	0,144
Alt	0,192

Tab. 11: Statistische Auswertung über den Vergleich, ob sich die Anzahl GABAerger und glyzinerger Neurone im AVCN unterscheiden. Die Tabelle listet die p-Werte. Beim Vergleich über alle Tiere zeigt sich ein Wert unter 0,1 (fett markiert). Dies weist auf einen Trend hin, dass sich die Anzahl GABAerger und glyzinerger Neurone aller Tiere unterscheidet, obwohl das Kriterium von $p = 0.05$ knapp verfehlt wird.

2.2 Untersuchung der Zelldichte GABAerger und glyzinerger Neurone im AVCN

Die Zelldichte ist ein Maß, das als Quotient aus der Zellzahl und der Fläche berechnet wird. Dieses Maß wurde schon mehrfach in früheren Studien eingesetzt und erlaubt Vergleiche für Teilbereiche, die nicht anhand klarer anatomischer Grenzen abgrenzbar sind, sondern mehr oder weniger willkürlich unterteilt wurden, wie hier die tonotopie Unterteilung der CN-Unterkerne (siehe Kapitel „Material und Methoden“, Abbildung 4). Bei der Untersuchung altersabhängiger Effekte der Zelldichte (Zellzahl pro mm²) GABA- bzw. glyzinerger Neurone wird der AVCN zuerst im Ganzen betrachtet. Anschließend wird untersucht, ob es Dichteunterschiede zwischen und innerhalb der hoch-, mittel- und tieffrequenten Teilbereiche des AVCN gibt. Afferente Fasern werden in allen drei CN Unterkernen tonotop verteilt. So auch im AVCN. Fasern des N. acusticus, die hochfrequente Informationen transportieren und vom basalen Teil der Cochlea stammen, ziehen in den dorsalen Bereich; Fasern, die niedrigfrequente Informationen transportieren und vom apikalen Teil der Cochlea stammen, ziehen in den ventralen Bereich. Diese Verteilung setzt sich in jeder Stufe der Hörbahn fort (Webster 1971). Im CN werden die Fasern des ersten akustischen Neurons (N. acusticus) zum ersten Mal umgeschaltet (Strutz, 1987). Es ist deshalb zu untersuchen, ob sich differenzielle Veränderungen in diesen Bereichen im Laufe des Älterwerdens abspielen, da aus anderen Studien bekannt ist, dass periphere Hörverluste im Alter nicht alle Frequenzbereiche in ähnlichem Ausmaß betreffen (Willott et al., 1996, Hamann et al., 2002).

Bei den statistischen Analysen zur Untersuchung der Dichte wird genau so verfahren, wie bei der Untersuchung der Anzahl GABAerger und glyzinerger Neurone im Kapitel 2.1.

2.2.1 Zelldichte im gesamten AVCN

Die Zelldichten als Funktion des Alters für den AVCN sind in den Diagrammen 9A für die GABA-Färbung und in 9B für die Glyzinfärbung dargestellt. Die beiden Altersgruppen Alt I und Alt II sind wieder durch unterschiedliche Symbole

gekennzeichnet und die Mittelwerte der einzelnen Gruppen durch Linien verbunden. Die einzelnen Werte zu Alter und Dichte finden sich für GABA in Tabelle 12A und für Glyzin in 12B.

Vergleicht man in den Diagrammen 9A und 9B die jungen Tiere mit allen alten, bleiben für die GABA- und Glyzinfärbung die Neuronendichten annähernd gleich. Die durchgezogenen Linien, die die Mittelwerte junger und aller alten Tiere verbindet, verlaufen für die GABA-Färbung annähernd horizontal, während diese für Glyzin leicht ansteigt. Bei der statistischen Untersuchung des Alterseffekts unter Einbeziehung aller alten Tiere mittels der Spearman Rang Korrelation ist weder für die GABA- noch für die Glyzinfärbung eine altersabhängige Dichteänderung festzustellen. Beide Signifikanzwerte liegen weit über 0,05, vergleiche dazu Tabelle 13.

Die Dichten GABAerger Neurone der Tiere Alt I scheinen im Diagramm 9A abzunehmen, die Dichten der Gruppe Alt II dagegen zuzunehmen. Diese Beobachtung scheint logisch als Folge der Änderungen von Querschnittsflächen und Neuronenzahlen: Für die Gruppe Alt I nimmt die Anzahl der GABAergen Neurone unter den alten Tieren am stärksten ab (vergleiche Diagramm 7A), wobei die Fläche gleich bleibt. Eine Abnahme der Dichte ist die Folge. Für die Gruppe Alt II nimmt in erster Linie die Fläche ab, folglich steigt die Dichte. In dieser Beobachtung spiegelt sich die Tatsache wider, dass die Anzahl der Neurone nicht mit den Querschnittsflächen korrelieren. Überprüft man, ob sich die Dichten altersbedingt unter Berücksichtigung der jungen Tiere und entweder der Gruppe Alt I oder Alt II signifikant vom Alter abhängen, zeigt die Spearman Rang Korrelation keine signifikanten Unterschiede: $p(\text{Jung/Alt I})=0,333$; $p(\text{Jung/Alt II})=0,576$. Die Dichtewerte der beiden Altersgruppen korrelieren somit nicht mit dem Alter.

Im Diagramm 9B ist für die Dichten glyzinerger Neurone der Gruppe Alt I und Alt II keine Dichteänderung erkennbar. Die Mittelwertslinien Jung/Alt I und Jung/Alt II weichen nur geringfügig von der Mittelwertslinie zwischen Jung und allen Alten ab. Bei Berechnungen nach der Spearman Rang Korrelation, die den Einfluss des Alters auf die Dichten glyzinerger Neurone von Jung unter Einbeziehung von Alt I bzw. Alt II bestimmt, ergeben sich keine signifikanten Werte. Sämtliche Ergebnisse der Rangkorrelation zur Untersuchung eines alterabhängigen Effektes sind für beide Färbungen in Tabelle 13 aufgelistet.

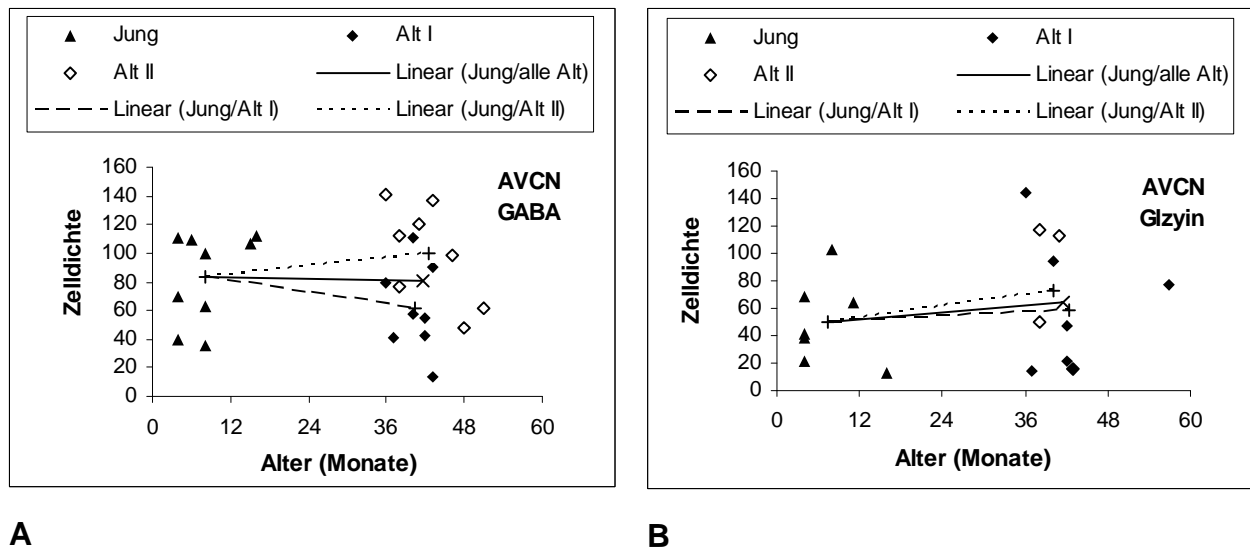
Tier (Nummer)	Alter (Monate)	AVCN	Gruppe
697	4	111,41	1
713	4	70,32	1
727	4	39,54	1
666	6	108,91	1
710	8	63,22	1
711	8	35,06	1
838	8	99,65	1
705	15	107,28	1
768	16	111,89	1
702	36	141,27	3
798	36	79,29	2
764	37	41,56	2
805	38	112,35	3
808	38	76,72	3
759	40	56,83	2
793	40	110,33	2
819	41	120,69	3
762	42	42,21	2
815	42	54,79	2
785	43	90,16	2
786	43	14,32	2
822	43	137,30	3
795	46	98,69	3
827	48	47,57	3
839	51	61,54	3

A

Tier (Nummer)	Alter (Monate)	AVCN	Gruppe
697	4	38,87	1
713	4	68,91	1
718	4	41,57	1
727	4	20,97	1
838	8	102,75	1
760	11	64,33	1
768	16	12,70	1
798	36	144,31	2
764	37	14,23	2
805	38	49,33	3
808	38	116,66	3
793	40	93,72	2
819	41	112,42	3
762	42	21,55	2
763	42	46,76	2
786	43	15,61	2
822	43	15,01	3
782	57	77,15	2

B

Tab. 12: Auflistung der Zelldichten (pro mm²) im AVCN entsprechend dem Alter für GABA (A) und Glyzin (B). Gruppe 1: junge Tiere; Gruppe 2: Alt I; Gruppe 3: Alt II.



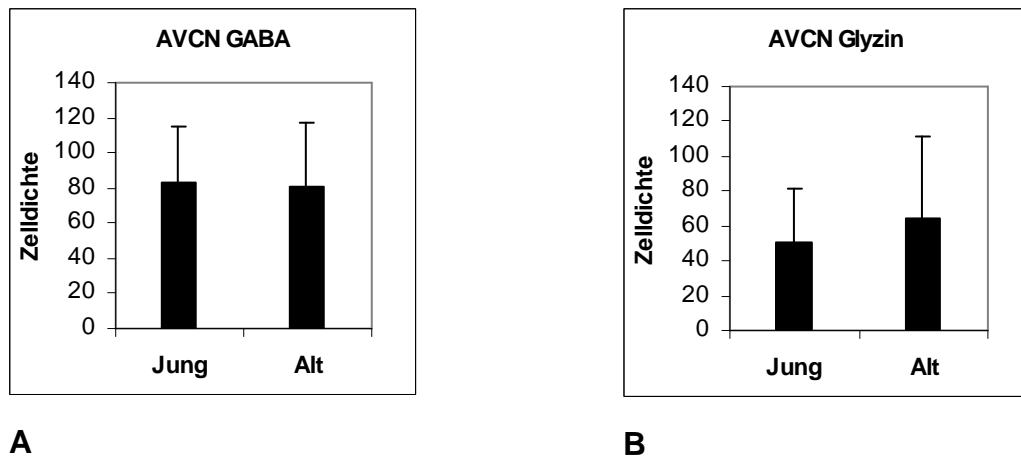
Diagr. 9: Darstellung der mittlere Zelldichten (pro mm²) des AVCN für GABA (A) und Glyzin (B), entsprechend dem Alter. Die dazugehörigen Werte finden sich in Tabelle 12. Die Linien verbinden die Mittelwerte der einzelnen Gruppen (vergleiche dazu die Legende). (Im Falle von Glyzin im Diagramm 8B überlagert sich eines der vier Tiere aus der Gruppe Alt II mit einem aus der Gruppe Alt I und ist deshalb nicht sichtbar).

Spearman Rang Korrelation

	GABA	Glyzin
Jung / alle Alten	0,641	0,948
Jung / Alt I	0,333	0,982
Jung / Alt II	0,576	0,692

Tab. 13: Statistische Auswertung inwieweit das Alter mit der Dichte GABAerger- bzw. glyzinerger Neurone im AVCN korreliert. Dabei wurden separate Analysen durchgeführt, in die jeweils junge und alle alten Tieren, junge und die der Gruppe Alt I bzw. junge und die der Gruppe Alt II mit einbezogen wurden. Die Tabelle listet die p-Werte und zeigt, dass in keiner dieser Korrelationen eine Wahrscheinlichkeit unter 0,05 erreicht wurde und somit kein signifikanter Effekt des Alters auf die Dichte der GABAergen und Glyzinerger Zellen feststellbar war.

In den Säulen-Diagrammen 10A und 10B sind die Mittelwerte mit Standardabweichungen der Zelldichten für die jungen und alten Tiere jeweils für GABA- bzw. für glyzinexprimierende Neurone gegenübergestellt. Im Mittel nimmt zwar die Zelldichte zwischen Jung und Alt für GABA minimal ab und für Glyzin zu, aber angesichts der Standardabweichung konnten auch mit dem Mann-Whitney-U Test keine signifikanten Gruppenunterschiede festgestellt werden (vergleiche Tabelle 14).



Diagr. 10: Gegenüberstellung der Mittelwerte mit Standardabweichungen der Zelldichten GABAerger (A) und glyzinerger (B) Neurone junger und aller alten Tiere im AVCN.

Mann-Whitney-U Test

	GABA	Glyzin
Jung / alle Alten	0,934	0,536

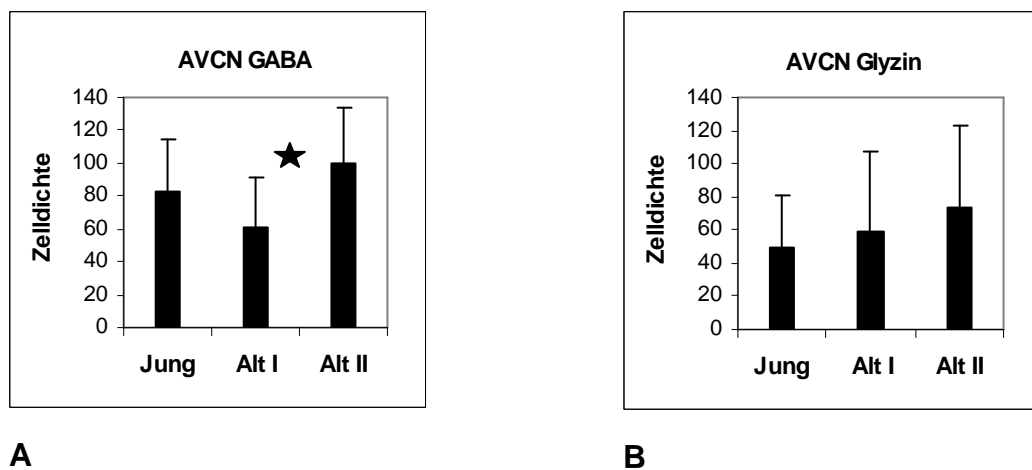
Tab. 14. : Statistische Auswertung des Dichtevergleichs GABAerger bzw. glyzinerger Neurone im AVCN zwischen jungen und allen alten Tieren. Die Tabelle listet die p-Werte und zeigt, dass in keinem dieser Vergleiche eine Wahrscheinlichkeit unter 0,05 erreicht wurde und somit kein signifikanter Unterschied der Anzahl der GABAerger bzw. glyzinerger Zellen zwischen den jungen und alten Tieren feststellbar war.

In den Säulendiagrammen 11A und 11B sind die Mittelwerte und Standardabweichungen der jungen Tiere den Mittelwerten beider Gruppen Alt I und Alt II gegenübergestellt.

Vergleicht man die beiden Diagramme, zeigt sich für GABAerge Neurone der Gruppe Alt I als Einziges eine Abnahme Ihrer Zelldichte, wobei die Dichte der Gruppe Alt II im Vergleich zu den jungen Tieren zunimmt. Im Diagramm 11B steigen die Dichtemittelwerte glyzinerger Neurone von den jungen Gerbils, über die Gruppe Alt I bis Alt II geringfügig an. Vergleicht man mit dem Kruskal-Wallis Test die drei Altersgruppen miteinander, zeigt dieser für die GABAfärbung einen Signifikanzwert von $p=0,090$ (vergleiche Tabelle 15). Dies ist zwar kein signifikantes Ergebnis, gibt aber einen Trend an, dass sich die drei Gruppen Jung, Alt I und Alt II der GABAfärbung in ihrer Dichte unterscheiden. Um festzustellen zwischen welchen Gruppen Unterschiede bestehen, werden folglich alle drei miteinander paarweise mittels Mann-Whitney-U Test verglichen. Vergleiche zwischen Jung und Alt I bzw.

Jung und Alt II zeigen sich keine statistisch relevanten Ergebnisse. Nur beim Vergleich der Dichtemittelwerte von Alt I mit Alt II ergibt sich ein Signifikanzwert von $p=0,038$ (vergleiche Tabelle 16). Das bedeutet, dass die alten Tiere mit deutlich geringeren AVCN-Querschnittsflächen eine signifikant höhere Dichte an GABAerger Neuronen zeigen, als diejenigen alten Tiere, deren Fläche im Vergleich zu jungen Tieren gleich bleibt. Bei der Bewertung des Unterschieds in der Zelldichte zwischen Alt I und Alt II muss kritisch berücksichtigt werden, dass beim Kruskal-Wallis Vergleich der 3 Gruppen nur ein $p = 0.09$ erreicht wurde.

Für die Glyzinfärbung ergab der Kruskal-Wallis Test einen Wert von $p=0,656$. Einen Dichteunterschied zwischen jungen Tieren, Alt I und Alt II gibt es nicht. Hier sind weitere statistische Tests zum Vergleich von Jung mit Alt I, Jung mit Alt II und Alt I mit Alt II mittels des Mann-Whitney-U Tests nicht zulässig. Signifikante Werte wären ohnehin für die Glyzinfärbung kaum zu erwarten. Die Stichprobengöße für Alt I beträgt nur 7 und für Alt II nur 4 Tiere. Die Ergebnisse des Kruskal-Wallis Test sind in Tabelle 15 zusammengefasst.



Diagr. 11: Gegenüberstellung der Mittelwerte mit Standardabweichungen der Zelldichten GABAerger (A) und glyzinerger (B) Neurone der Gruppe der jungen Tiere, der Gruppe Alt I und der Gruppe Alt II im AVCN. (Schwarzer Stern= signifikanter Dichteunterschied, $p < 0.05$)

Kruskal-Wallis Test

	GABA	Glyzin
Jung / Alt I / Alt II	0,090	0,656

Tab. 15: Statistische Auswertung des Dichtevergleichs GABAerger bzw. glyzinerger Neurone im AVCN zwischen jungen Tieren, Tiere der Gruppe Alt I und Alt II. Die Tabelle listete die p-Werte und zeigt für die GABAFärbung einen Signifikanzwert unter 0,1 an. Das Ergebnis weist auf einen Trend hin, dass sich die Dichtewerte der drei Gruppen signifikant unterscheiden.

Mann-Withney-U Test

	GABA
Jung / Alt I	0,236
Jung / Alt II	0,277
Alt I / Alt II	<u>0,038</u>

Tab. 16: Statistische Auswertung des Dichtevergleichs GABAerger Neurone im AVCN zwischen Jung und der Gruppe Alt I, Jung und der Gruppe Alt II und Alt I und Alt II. Die Tabelle listet die p-Werte und zeigt einen statistisch signifikanten Dichteunterschied zwischen den Altersgruppen Alt I und Alt II (fett/unterstrichen). Die Berechnung dieses Tests für die Glyzinfärbung ist aufgrund des vorangegangenen nicht signifikanten Kruskal-Wallis Test formal nicht zulässig.

2.2.2 Zelldichte im ventralen, mittigen und dorsalen AVCN

Für den AVCN bleibt noch die Frage offen, ob sich jeweils im ventralen (tieffrequenten), mittigen (mittelfrequenten) und dorsalen (hochfrequenten) Bereich des AVCN ein altersbedingter Unterschied in der Neuronendichte zeigt.

Dazu sind in den Diagrammen 12A für GABA und 12B für Glyzin für die drei Frequenzbereiche die Mittelwerte und die Standardabweichungen junger und alter Gerbils nebeneinander aufgetragen. In Tabelle 17A und 17B sind für GABA und Glyzin die einzelnen Dichten der drei Bereiche aufgelistet.

Beim Vergleich der Dichtemittelwerte junger und alter Tiere im Diagramm 12A fällt auf, dass nur im ventralen Bereich die Dichte GABAerger Neurone der alten Tiere etwas geringer ist als die der jungen. Im mittigen und dorsalen Teil sind die Dichten alter Tiere geringfügig größer. Statistische Berechnungen mittels der Spearman Rang Korrelation und auch mittels des Mann-Withney-U Tests ergeben beim Vergleich junger mit alten Tieren keine Werte, die auf einen signifikanten

Dichteunterschied GABAerger Neurone junger und alter Gerbils in den 3 untersuchten Frequenzbereichen hindeuten. Die Ergebnisse für die Rangkorrelation sind in Tabelle 18 und für den Gruppenvergleich in Tabelle 19 aufgeführt.

Im Diagramm 12B sind Dichtemittelwerte glyzinerger Neurone aller alten Tiere in allen drei Bereichen des AVCN größer als bei den jungen Tieren, wobei der Unterschied im ventralen und mittigen Teil am größten und im dorsalen, hochfrequenten Bereich am geringsten ausfällt. Vergleicht man die Dichten glyzinerger Neurone junger Tiere mit den Dichten alter Tiere mittels Spearman Rang Korrelation, ergeben sich für alle drei Bereiche Signifikanzwerte weit über 0,05 (vergleiche Tabelle 18). Die Dichten glyzinerger Neurone korrelieren somit innerhalb der tonotopen Bereiche nicht mit dem Alter. Auch beim Gruppenvergleich mit dem Mann-Whitney-U Test ergeben sich keine signifikanten Unterschiede (vergleiche Tabelle 19).

Zusammenfassend zeigt sich auch innerhalb der drei frequenzspezifischen Bereiche des AVCN kein signifikanter Effekt des Alters auf die Dichte GABA- bzw. glyzinerger Neurone.

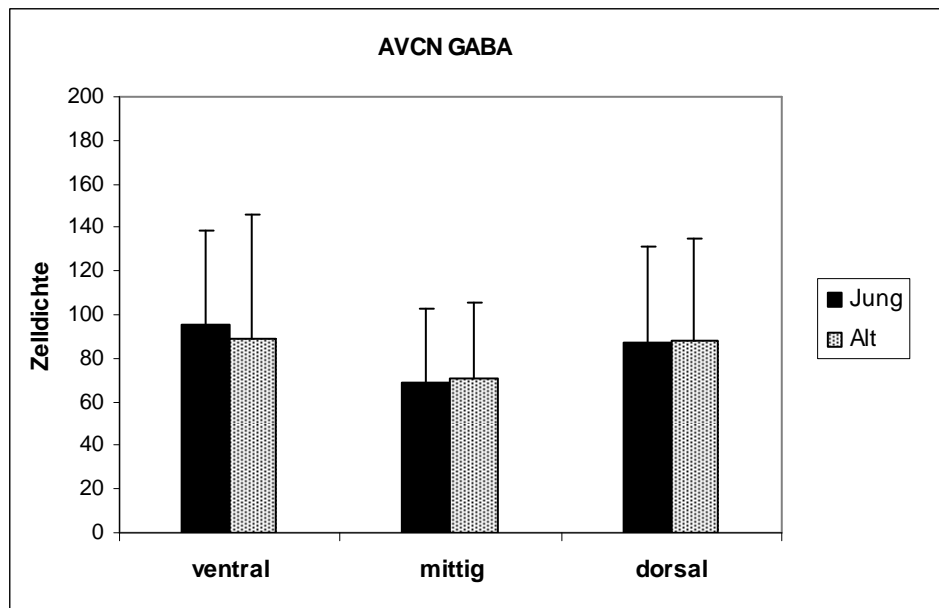
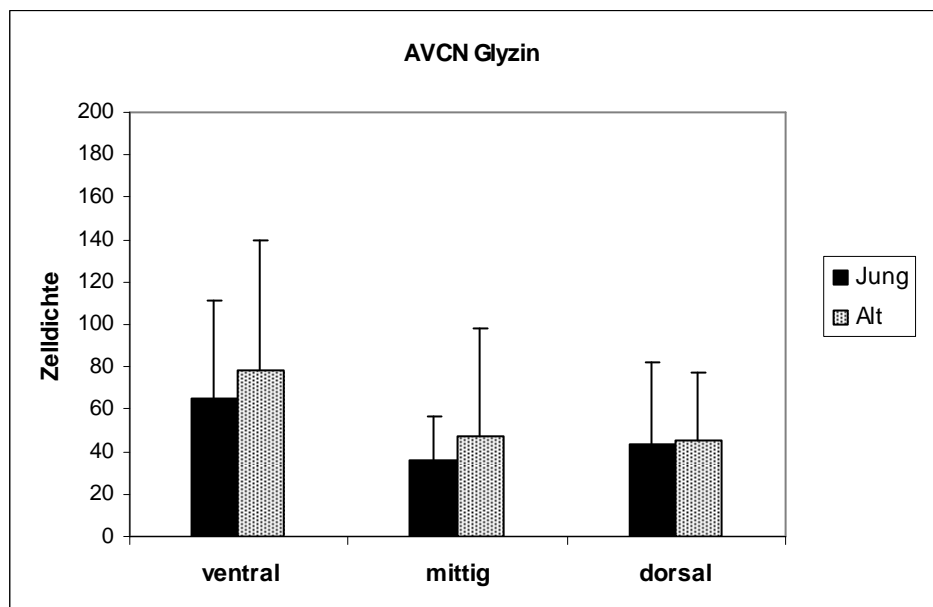
Tier (Nummer)	Alter (Monate)	AVCN dorsal	AVCN mitte	AVCN ventral	Gruppe
697	4	96,61	113,17	109,92	1
713	4	26,52	31,05	102,84	1
727	4	58,20	37,75	41,51	1
666	6	124,30	103,44	113,53	1
710	8	49,36	67,49	58,76	1
711	8	52,09	31,53	38,78	1
838	8	154,81	91,64	107,98	1
705	15	93,69	100,01	115,15	1
768	16	130,63	46,35	173,08	1
702	36	62,78	36,73	215,69	3
798	36	56,50	118,33	44,02	2
764	37	39,12	49,50	34,62	2
805	38	104,23	104,80	122,43	3
808	38	146,34	83,71	72,33	3
759	40	80,09	79,08	40,97	2
793	40	116,16	104,98	114,97	2
819	41	183,03	63,23	176,48	3
762	42	31,53	38,86	45,59	2
815	42	47,21	37,87	70,55	2
785	43	68,89	86,84	93,25	2
786	43	55,34	25,35	4,51	2
822	43	176,43	115,51	155,64	3
795	46	71,65	118,63	81,29	3
827	48	99,66	46,31	48,50	3
839	51	70,68	17,36	101,13	3

A

Tier (Nummer)	Alter (Monate)	AVCN dorsal	AVCN mitte	AVCN ventral	Gruppe
697	4	46,04	18,23	58,86	1
713	4	42,38	47,82	92,13	1
718	4	123,15	54,42	28,24	1
727	4	0,00	6,73	36,36	1
838	8	23,20	58,65	145,58	1
760	11	25,53	45,88	84,78	1
768	16	44,08	18,83	6,43	1
798	36	118,63	148,19	140,44	2
764	37	9,46	10,09	17,90	2
805	38	57,25	47,39	51,15	3
808	38	58,24	33,72	179,86	3
793	40	62,34	129,42	60,40	2
819	41	35,99	41,61	178,40	3
762	42	27,55	19,28	23,65	2
763	42	26,34	0,00	88,11	2
786	43	6,97	13,32	17,63	2
822	43	33,36	0,00	30,54	3
782	57	65,02	79,22	74,80	2

B

Tab. 17: Auflistung der Zelldichten (pro mm²) für den dorsalen, den mittleren und den ventralen Teil des AVCN entsprechend dem Alter für GABA (A) und Glyzin (B). Gruppe 1: junge Tiere; Gruppe 2: Alt I; Gruppe 3: Alt II.

**A****B**

Diagr. 12: Gegenüberstellung der Dichtemittelwerte und Standardabweichungen für GABA (A) und für Glyzin (B), junger und aller alter Tiere für den ventralen (niedrigfrequenten), den mittigen (mittelfrequenten) und den dorsalen (hochfrequenten) Bereich des AVCN.

Spearman Rang Korrelation

Jung/Alt	GABA	Glyzin
ventral	0,688	0,740
mittig	0,908	0,526
dorsal	0,656	0,935
Jung/Alt I		
ventral	0,178	0,543
mittig	0,541	0,958
dorsal	0,667	0,910
Jung/Alt II		
ventral	0,571	0,641
mittig	0,767	0,413
dorsal	0,146	0,967

Tab. 18: Statistische Auswertung inwieweit das Alter mit der Dichte GABAerger bzw. glyzinerger Neurone im ventralen (tieffrequenten), mittigen (mittelfrequenten) und dorsalen (hochfrequenten) Bereich des AVCN korreliert. Dabei wurden separate Analysen durchgeführt, in die jeweils die jungen und allen alten Tieren, die jungen und die der Gruppe Alt I bzw. die jungen und die der Gruppe Alt II mit einbezogen wurden. Die Tabelle listet die p-Werte und zeigt, dass in keiner dieser Korrelationen eine Wahrscheinlichkeit unter 0,05 erreicht wurde und somit kein signifikanter Effekt des Alters auf die Dichte der GABAergen und glyzinerger Zellen feststellbar war.

Mann-Withney-U Test

Jung/Alt	GABA	Glyzin
ventral	0,610	0,821
mittig	0,755	0,821
dorsal	0,955	0,618

Tab. 19: Statistische Auswertung des Dichtevergleichs GABAerger bzw. glyzinerger Neurone für den ventralen (tieffrequenten), mittigen (mittelfrequenten) und dorsalen (hochfrequenten) Bereich des AVCN zwischen jungen und allen alten Tieren. Die Tabelle listet die p-Werte und zeigt, dass in keinem dieser Vergleiche eine Wahrscheinlichkeit unter 0,05 erreicht wurde und somit kein signifikanter Unterschied der Anzahl der GABAerger bzw. glyzinerger Zellen zwischen den jungen und alten Tieren feststellbar war.

Um einen Vergleich der Dichten der beiden Tiergruppen Alt I und Alt II zu den Dichten junger Tiere für die drei Frequenzbereiche vornehmen zu können, wurde in dem Säulen-Diagrammen 13A für die GABAFärbung und in dem Säulen-Diagramm 13B für die Glyzinfärbung die Dichtemittelwerte und Standardabweichungen junger Tiere, die der Gruppe Alt I und der Gruppe Alt II für den ventralen, den mittigen und den dorsalen Bereich gegenübergestellt.

Für die GABAfärbung ist auffällig, dass die Verteilung der Dichtemittelwerte die größten Unterschiede zwischen den jungen Tieren und den beiden Gruppen alter Tiere im ventralen und dorsalen Bereich des AVCN aufweisen, während sie im mittleren Bereich sehr ähnlich sind. Die Dichtemittelwerte GABAerger Neurone der Gruppe Alt I zeigen im ventralen und dorsalen Bereich eine Abnahme, wobei die Dichtemittelwerte der Gruppe Alt II im Vergleich zu den jungen Tieren deutlich zunimmt. Vor allem im ventralen Bereich, in dem die Dichteunterschiede zwischen Jung und Alt I bzw. Jung und Alt II am stärksten zu erkennen sind, könnte man signifikante Unterschiede erwarten. Im mittigen Teil des AVCN sind die Dichtemittelwerte junger Tiere und der beiden Altersgruppen Alt I und Alt II dagegen annähernd gleich. Hier gibt es keinen starken Unterschied zwischen den Dichtemittelwerten der drei Altersgruppen. Untersucht man mittels der Spearman Rang Korrelation für alle drei Bereiche des AVCN eine mögliche Abhängigkeit der Dichten GABAerger Neurone vom Alter für die zwei verschiedenen Altersgruppen, in dem man die Dichten der jungen Tiere und entweder die der Gruppe Alt I oder Alt II einbezieht, ergeben sich für keine der drei Frequenzbereiche Signifikanzwerte unter 0,05. Die Dichten zeigen weder unter Einbeziehung von Alt I noch von Alt II einen signifikanten Einfluß des Alters im ventralen, im mittigen, oder im dorsalen Bereich des AVCN. Die Ergebnisse der Rangkorrelation für die drei Teilbereiche des AVCN, in der die Dichten GABAerger Neurone junger Tiere mit denen aus der Gruppe Alt I und aus der Gruppe Alt II verglichen werden, sind in Tabelle 18 aufgeführt.

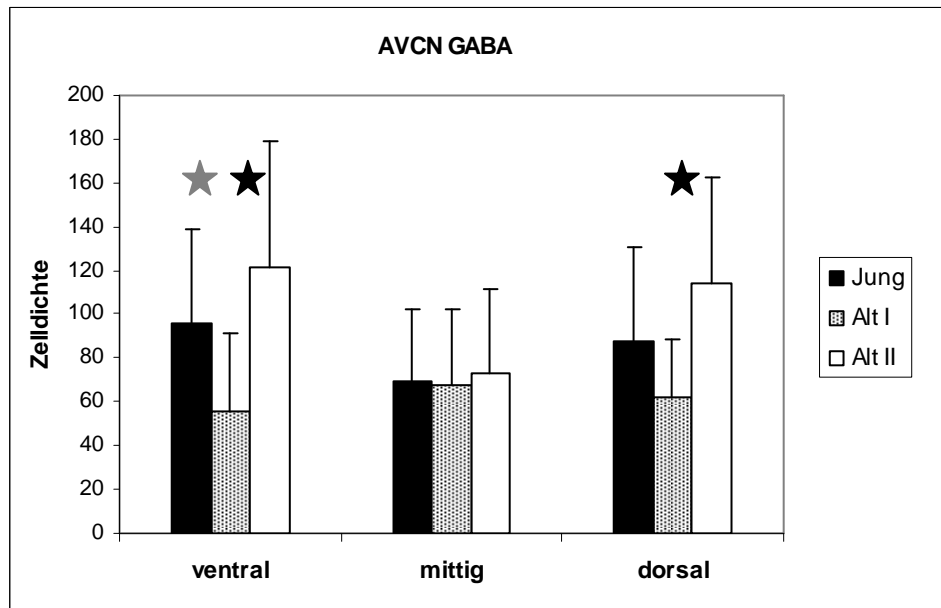
Für die Dichtemittelwerte glyzinerger Neurone in Diagramm 13B ist auffällig, dass im ventralen Teil des AVCN die Tiere der Gruppe Alt II eine ausgesprochen hohe Neuronendichte aufweisen. Mit einer recht großen Standardabweichung und einer geringen Stichprobenmenge wird hier aber kein signifikanter Dichteunterschied zu erwarten sein (Tabelle 17B). Im mittigen Teil des AVCN zeigen die Tiere der Gruppe Alt I im Vergleich zu den jungen Tieren höhere Dichtemittelwerte, wobei die Dichten der Gruppe Alt II hier geringfügig absinken. Eine auffällige Dichteänderung glyzinerger Neurone zwischen jungen Tieren und denen der Gruppen Alt I bzw. Alt II ist im dorsalen Teil des AVCN nicht zu erkennen. Vergleicht man die Dichtewerte der jungen Tiere mit denen der Tiere aus den Gruppen Alt I bzw. Alt II, jeweils für alle drei Frequenzbereiche, ergeben sich mit der Spearman Rang Korrelation keine signifikanten Werte. Die Ergebnisse sind in Tabelle 18 aufgeführt.

Um einen zweiten Test neben der Rangkorrelation durchführen zu können, werden zuerst die Dichtemittelwerte der drei Altersgruppen für den ventralen, mittigen und dorsalen Bereich des AVCN mittels des Kruskal-Wallis Test (Tabelle 20) verglichen. Für die GABAFärbung im ventralen und dorsalen Teil des AVCN zeigen sich signifikante Unterschiede innerhalb der drei Gruppen Jung, Alt I, Alt II. Hier bestätigen sich die oben gemachten Vermutungen: Im ventralen Bereich unterscheiden sich die Dichten GABAerger Neurone der jungen Tiere, der Tiere aus den Gruppen Alt I und Alt II mit einem Signifikanzwert von $p = 0.034$ und im dorsalen Bereich mit $p = 0.046$. Weitere paarweise Vergleiche mit dem Mann-Whitney-U Test von Jung mit Alt I, Jung mit Alt II und Alt I mit Alt II sind in diesen Bereichen des AVCN zulässig. Für den mittigen Bereich des AVCN bei der GABAFärbung und für alle drei Bereiche des AVCN in der Glyzinfärbung liegen die p-Werte weit über 0,05. Für beide Färbungen sind die Ergebnisse des Kruskal-Wallis Test in Tabelle 20 aufgeführt.

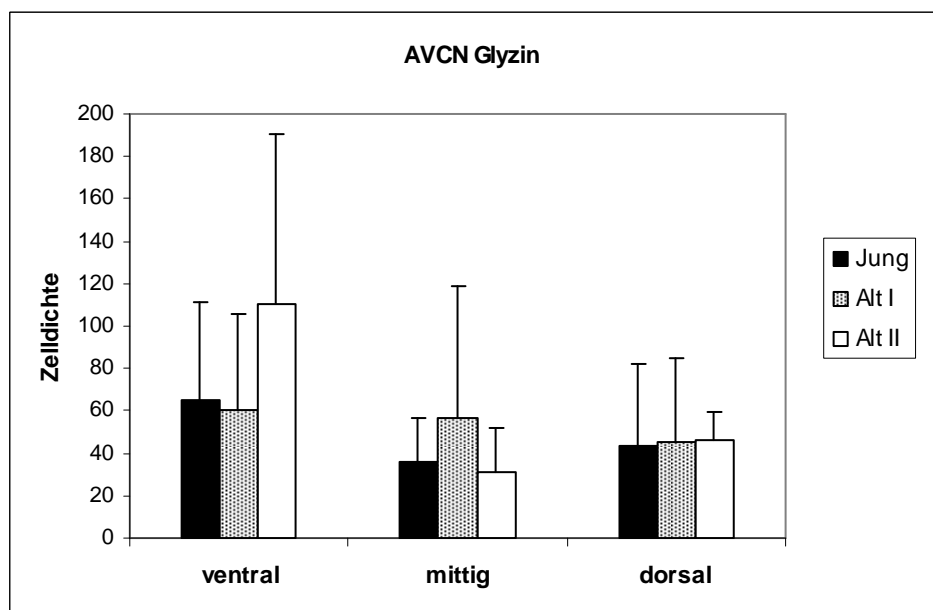
Für den ventralen und dorsalen Bereich des AVCN der GABAFärbung werden nun neben der Spearman Rang Korrelation die Dichten der jungen Tiere mit den Dichten der Tiere aus den beiden Gruppen Alt I und Alt II bzw. die Dichten von Alt I und Alt II mit dem Mann-Whitney-U Test verglichen, vergleiche dazu Diagramm 13A. Für den ventralen Bereich ergibt sich beim Vergleich Jung mit Alt I ein Wert von $p=0,093$. Dieser Wert ist zwar nicht signifikant, weist aber auf einen Trend hin, dass die Dichten GABAerger Neurone junger Tiere in diesem Bereich höher sind, als die Dichten von Alt I. Die Dichten der Gruppe Alt II sind nicht signifikant größer als die Dichten junger Tiere. Beim Vergleich Jung/Alt II mit dem Mann-Whitney-U-Test ergibt sich ein p-Wert von 0,423. Dagegen erweist sich der große Unterschied der Dichtemittelwerte GABAerger Neurone von Alt I und Alt II (vergleiche Diagramm 13A) im ventralen Teil des AVCN als signifikant ($p=0,010$).

Für den dorsalen Teil des AVCN ergeben die Berechnungen des Mann-Whitney-U Tests beim Vergleich der Dichtemittelwerte GABAerger Neurone junger Tiere mit denen der Gruppen Alt I bzw. Alt II keine signifikanten Werte. Beim Vergleich Alt I mit Alt II zeigt sich ein Signifikanzwert von $p=0,015$. Der schon weiter oben beschriebene signifikante Unterschied zwischen Alt I und Alt II in der Dichte GABAexprimierender Neurone im gesamten AVCN (Diagramm 11A) beruht vor allem auf Unterschieden im ventralen ($p=0,010$) und im dorsalen Bereich ($p=0,015$), während im Bereich der mittleren Frequenzen kein Unterschied erkennbar war (Kruskal-Wallis Test: $p=0,922$,

vergleiche Tabelle 20). Die Signifikanzwerte des Mann-Whitney-U Tests für den Vergleich der Dichten von Jung/Alt I, Jung/Alt II und Alt I/Alt II für den ventralen und dorsalen Bereich des AVCN in der GABAfärbung sind in Tabelle 21 angegeben. Für den mittigen Bereich des AVCN bei der GABAfärbung und für alle drei Bereiche des AVCN in der Glyzinfärbung sind diese Berechnungen nicht mehr zulässig (Kruskal-Wallis Test $> 0,05$, vergleiche Tabelle 20).



A



B

Diagr. 13: : Gegenüberstellung der Dichtemittelwerte mit Standardabweichungen für GABA (A) und für Glyzin (B), junger Tiere und der Gruppen Alt I und Alt II, für den ventralen

(tieffrequenten), mittigen (mittelfrequenten) und dorsalen (hochfrequenten) Bereich des AVCN. (Schwarzer Stern= signifikanter Dichteunterschied, $p < 0.05$; grauer Stern= Dichteunterschied mit tendenzieller Wahrscheinlichkeit, $p < 0.1$)

Kruskal-Wallis Test

Jung / Alt I / Alt II	GABA	Glyzin
ventral	<u>0,034</u>	0,483
mittig	0,922	0,843
dorsal	<u>0,046</u>	0,791

Tab. 20: Statistische Auswertung des Dichtevergleichs GABAerger bzw. glyzinerger Neurone im AVCN zwischen jungen Tieren, Tieren der Gruppe Alt I und Alt II für den ventralen (tieffrequenten), mittigen (mittelfrequenten) und dorsalen (hochfrequenten) Bereich des AVCN. Die Tabelle listet die p-Werte und zeigt für die GABAFärbung im ventralen und dorsalen Bereich einen Signifikanzwert unter 0,05 (fett/unterstrichen). Für diese beiden Bereiche gibt es einen statistisch signifikanten Dichteunterschied GABAerger Neurone innerhalb der drei Altersgruppen.

Mann-Whitney-U Test

Jung/Alt I	GABA
ventral	<u>0,093</u>
dorsal	0,236
Jung/Alt II	
ventral	0,423
dorsal	0,200
Alt I / Alt II	
ventral	<u>0,010</u>
dorsal	<u>0,015</u>

Tab. 21: Statistische Auswertung des Dichtevergleichs GABAerger Neurone für den ventralen (tieffrequenten) und dorsalen (hochfrequenten) Bereich des AVCN zwischen Jung und der Gruppe Alt I, Jung und der Gruppe Alt II und Alt I und Alt II. Die Tabelle listet die p-Werte. Statistisch signifikante Werte sind fett markiert und unterstrichen; Werte, die auf einen Trend hinweisen, sind fett markiert. Die Berechnung dieses Tests für den mittigen (mittelfrequenten) Teil und für die Glyzinfärbung ist aufgrund des vorangegangenen nicht signifikanten Kruskal-Wallis Test formal nicht zulässig.

Vergleicht man nun den Verlauf der Dichtewerte für GABAerge Neurone im Diagramm 12A unabhängig ihrer Altersgruppe entlang der Tonotopieachse, ergeben sich die höchsten Dichtewerte im niedrigfrequenten, ventralen Teil des AVCN. Im mittleren Frequenzbereich ist die Zelldichte GABAexprimierender Neurone am niedrigsten. Sie steigt zum hochfrequenten, dorsalen Teil wieder leicht an. Dies ist sowohl für die jungen, als auch für die alten Tiere erkennbar. Eine monotone Dichteänderung entlang des Frequenzbereiches lässt sich nicht feststellen. Die Dichtewerte glyzinexprimierender Neurone im Diagramm 12B sind im niederfrequenten ventralen Teil des AVCN sowohl bei jungen als auch bei alten Tieren am höchsten und im mittigen und dorsalen hochfrequenten Teil deutlich niedriger.

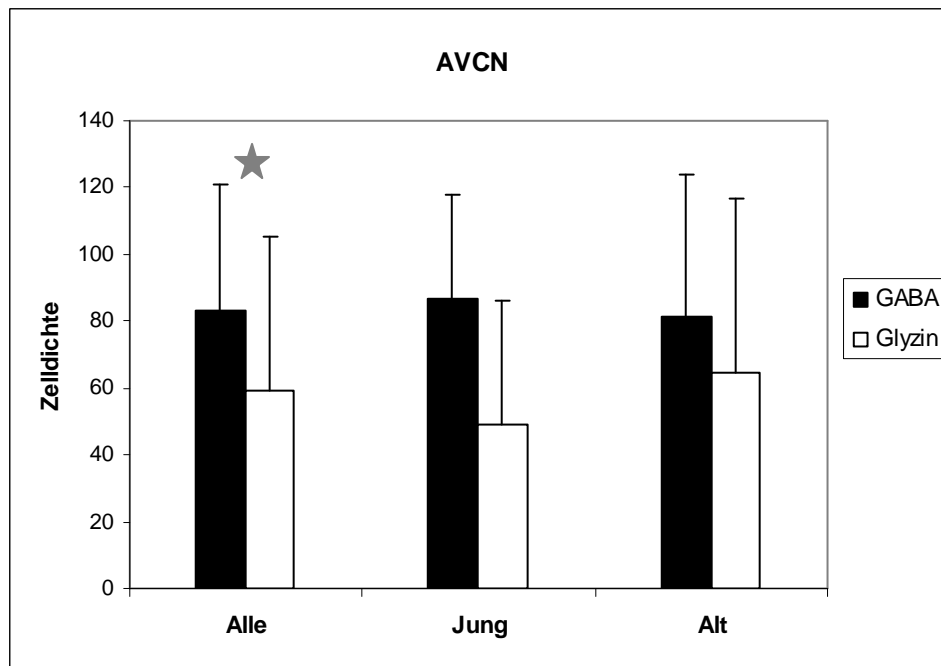
Um signifikante Dichteunterschiede innerhalb der drei Frequenzbereiche des AVCN festzustellen, werden die Dichten der drei Bereiche als drei verbundene Stichproben durch den Friedman Test verglichen. Bei der Berechnung nach Friedman kann auf eine Unterscheidung zwischen Jung und Alt verzichtet werden. Da die vorausgehende Analyse ergeben hat, dass keine signifikanten Unterschiede zwischen jungen und alten Tieren vorlagen, werden für die Analyse möglicher Unterschiede zwischen den dorsalen, mittleren und ventralen Bereichen des AVCN die Daten von jungen und alten Tieren zusammengefasst. Der mit diesen Gesamtdaten erfolgte Vergleich der drei frequenzspezifischen Bereiche des AVCN mittels Friedman Test zeigt, dass weder bei GABA noch bei Glyzin signifikante Unterschiede der Zelldichte zwischen den drei Bereichen vorliegen (Tabelle 22), die Unterschiede zwischen den AVCN Bereichen im Säulendiagramm 12 sind in der untersuchten Stichprobe also nicht signifikant.

Friedmann Test

Zelldichte (pro mm ²)	GABA	Glyzin
	0,228	0,128
	N=25	N=18

Tab. 22: Statistische Auswertung über Dichteunterschiede zwischen den drei Frequenzbereichen im AVCN für GABA und Glyzin. Es ergeben sich keine statistisch relevanten Werte.

Beim Vergleich der Diagramme 12A mit 12B fällt eine generell geringere Dichte glyzinerger Neurone im Vergleich zu GABA auf. Um die Frage zu klären, wie sich die Zellzahl bzw. Zelldichte GABAerger zu glyzinerger Neuronen verhält, werden nur die 14 Tiere zum Vergleich verwendet, bei denen beide Färbungen untersucht wurden. Im Diagramm 14 sind die Zelldichten der GABA- und Glyzinfärbung gegenübergestellt. Es wurden alle Tiere in diesen Vergleich einbezogen; zusätzlich wurde dieser Vergleich separat für die jungen und alten Tiere durchgeführt. Beim Dichtevergleich über alle Tiere hinweg zeigt der Wilcoxon-Test einen Wert von $p=0,074$ (siehe Tabelle 23). Dies bedeutet zwar keinen signifikanten Unterschied zwischen der Dichte GABAerger und glyzinerger Neurone, weist aber auf einen Trend für eine höhere Dichte GABAerger im Vergleich zu glyzinerger Neuronen hin. Führt man diese Analyse separat für die jungen bzw. alten Tiere durch, ergeben sich aufgrund der geringeren Stichprobengröße keine signifikanten Unterschiede. Allerdings bestand in allen Gruppen ein ähnlicher Unterschied zwischen der Dichte GABAerger und glyzinerger Zellen (Diagramm 14). Eine weitere Aufteilung in Alt I bzw. Alt II erübrigt sich, weil dann die Stichprobengröße nur noch 5 bzw. 4 betragen würde. Da der Friedman Test bei dem Vergleich der Zelldichten keine signifikanten Unterschiede ergab, werden die drei Frequenzbereiche des AVCN auf Unterschiede in der Dichte zwischen GABA- und glyzinexprimierenden Neuronen nicht mehr separat untersucht. Die Mittelwerte und Standardabweichungen zum Diagramm 14 finden sich in Tabelle 24.



Diagr. 14: Gegenüberstellung der Dichtemittelwerte mit Standardabweichungen von GABA und Glyzin für alle Tiere (N = 14), alle jungen (N = 5) und alle alten Tiere (N = 9) im AVCN. Die dazugehörigen Werte finden sich in Tabelle 24. (Grauer Stern= Dichteunterschied mit tendentieller Wahrscheinlichkeit, $p < 0.1$)

Wilcoxon-Test

	GABA/Glyzin
Alle	0,074
Jung	0,138
Alt	0,374

Tab. 23: Statistische Auswertung über den Vergleich, ob sich die Dichten GABAerger und glyzinerger Neurone im AVCN unterscheiden. Die Tabelle listet die p-Werte. Beim Vergleich über alle Tiere zeigt sich ein Wert unter 0,1 (fett markiert). Dies weist auf einen Trend hin, dass sich die Dichten GABAerger und glyzinerger Neurone aller Tiere signifikant unterscheiden.

	GABA	Glyzin
Alle	83,40+/- 37,31	59,08+/- 46,40
Jung	86,56+/- 31,24	48,84+/- 37,05
Alt	81,64+/- 42,00	64,76+/- 52,06

Tab. 24: Auflistung der Dichtemittelwerte und Standardabweichungen von GABAergen und glyzinerger Neuronen für alle Tiere, alle junge und alle alte Tiere für den AVCN.

2.3 Zusammenfassung

In dieser Arbeit kann für die Anzahl GABAerger und glyzinerger Neurone im AVCN festgestellt werden, dass die Zellzahlen nicht mit der Querschnittsfläche korrelieren. Das Alter hat keinen statistisch signifikanten Einfluss auf die Anzahl GABAerger bzw. glyzinerger Neurone. Allerdings kann aufgrund von Diagramm 5 nicht ausgeschlossen werden, dass bei einer größeren Stichprobe eine Abnahme GABAerger Neurone bei alten Tieren nachzuweisen wäre, während dies für Glyzin unwahrscheinlich erscheint.

Ebenso ergaben sich keine signifikanten Unterschiede in der Anzahl GABAerger und glyzinerger Neurone zwischen den untersuchten Tiergruppen (Alt I, Alt II und junge Tiere).

Es besteht ein Trend dahingehend, dass es im AVCN mehr GABAerge, als glyzinerge Neurone gibt. Dieser Unterschied besteht auch jeweils bei den jungen und bei den alten Tieren, aufgrund zu geringer Stichproben sind diese Unterschiede jedoch nicht signifikant (Diagramm 8).

Es lässt sich ebenso feststellen, dass es keinen signifikanten Einfluß des Alters auf die Dichtewerte GABAerger und glyzinerger Neurone im AVCN gibt. Die Dichten GABAerger Neurone nehmen im Mittel leicht ab (Diagramm 9A, 10A) und die Dichten glyzinerger Neurone sogar zu (Diagramm 9B, 10B), ein signifikanter Unterschied besteht jedoch nicht. Für beide inhibitorischen Transmitter steigt die Dichte im Mittel für die Gruppe Alt II im Vergleich zu den jungen Tieren an, ein signifikanter Unterschied besteht aber nicht (Diagramm 11).

Innerhalb der drei Frequenzbereiche des AVCN hat das Alter keinen signifikanten Einfluss auf die Dichten GABAerger und glyzinerger Neurone (Diagramm 12).

Bei separaten Untersuchungen von jungen Tieren mit den Gruppen Alt I und Alt II ergeben sich nur im ventralen und dorsalen Teil des AVCN bei GABA Hinweise auf mögliche Unterschiede zwischen den Tiergruppen (Diagramm 13, Tabelle 20) während der mittige (mittelfrequente) Bereich für alle Gruppen sehr ähnliche Dichtewerte aufwies.

Zwischen den Dichtewerten der ventralen, mittigen und dorsalen Bereiche des AVCN waren die Unterschiede aus Diagramm 12 nicht signifikant. Die drei tonotopen Bereiche unterscheiden sich somit weder in der GABA- noch in der Glyzinfärbung.

Für die GABAergen Neurone besteht ein Trend, dass diese im AVCN höhere Dichten aufweisen als glyzinerge Neurone (Diagramm 14).

3. Altersbedingte Veränderung im PVCN

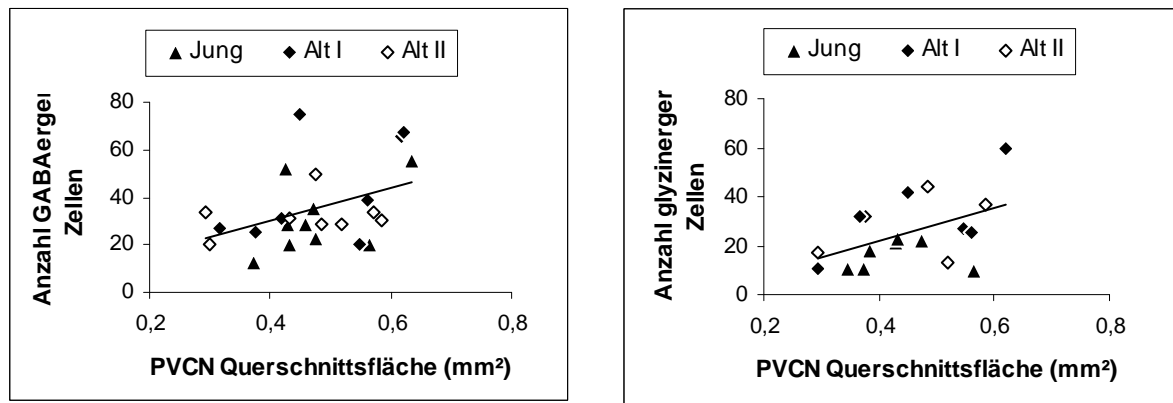
3.1 Untersuchung der Anzahl GABAerger und glyzinerger Neurone im PVCN

Für die Untersuchung der Anzahl und der Dichten GABAerger und glyzinerger Neurone im PVCN wurden die gleichen 29 Schnittserien verwendet, die für die Untersuchung des AVCN herangezogen wurden.

Die Untersuchungen des PVCN und die verwendeten statistischen Tests werden identisch zu den Untersuchungen des AVCN im Abschnitt 2 des Ergebnisteils durchgeführt.

Zuerst soll festgestellt werden, ob die Anzahl der Neurone beider Färbungen mit den Querschnittsflächen korrelieren. Zu diesem Zweck wurde den Querschnittsflächen jedes Tieres die entsprechende Anzahl an Neuronen gegenübergestellt. Im Diagramm 15A sind die Werte mit den 25 Tieren der GABAFärbung und in Diagramm 15B die 18 Tiere mit der Glyzinfärbung aufgeführt. Die jungen Tiere und die Tiere der Altersgruppen Alt I und Alt II sind mit unterschiedlichen Symbolen gekennzeichnet. Regressionslinien über alle Tiere sind zur besseren Beurteilung der Daten eingezeichnet. Die Werte sind den Tabellen 1 und 25 entnommen.

Bei beiden Diagrammen fällt eine positive Steigung der Regressionslinien auf. Hier lässt sich ein Zusammenhang zwischen den Querschnittsflächen und der jeweiligen Anzahl an Neuronen vermuten. Unabhängig der Alterszugehörigkeit scheint die Anzahl an GABAergen und glyzinerger Neurone mit den Querschnittsflächen zuzunehmen. Beim Vergleich der Querschnittsflächen mit der Anzahl an Neuronen ergeben sich bei der Korrelation nach Spearman für GABA einen Wert von $p=0,061$ ($r^2=0,1445$, $N=25$) und für Glyzin einen Wert von $p=0,079$ ($r^2=0,1808$, $N=18$). Diese Werte sind zwar nicht signifikant, deuten aber den Trend an, dass die Anzahl der Neurone beider Färbungen mit den Querschnittsflächen korrelieren, das heißt also bei den Tieren mit einer kleinen PVCN-Querschnittsfläche weniger inhibitorische Neurone vorhanden sind als bei Tieren mit großer PVCN Querschnittsfläche.

**A****B**

Diagr. 15: Darstellung der Anzahl GABAerger (A) und glyzinerger (B) Neurone in Abhängigkeit von der Querschnittsfläche. Die Altersgruppen Jung, Alt I und Alt II sind durch unterschiedliche Symbole gekennzeichnet. Zur besseren Beurteilung sind Regressionslinien eingezeichnet. Die Werte sind den Tabellen 1 und 25 entnommen.

Zur Untersuchung der Frage, ob die Zellzahl GABAerger oder glyzinerger Neurone mit dem Alter im PVCN korreliert, wurden in den Diagrammen 16A und 16B jeweils für beide Färbungen das Alter gegen die Zellzahlen aufgetragen. Dabei wurden die beiden Gruppen Alt I und Alt II durch unterschiedliche Symbole gekennzeichnet und der Mittelwerte der einzelnen Gruppen durch entsprechende Linien verbunden. Die einzelnen Werte zu Alter und Zellzahl sind für GABA in Tabelle 25A und für Glyzin in Tabelle 25B aufgeführt. Die eingezeichneten Linien verbinden jeweils den Mittelwert aller jungen Tiere mit dem aller alten Tiere (durchgezogene Linie) und dem der Gruppe Alt I (gestrichelte Linie) bzw. Alt II (gepunktete Linie) und dienen als Hilfslinien.

Vergleicht man beide Diagramme 16A und 16B, erkennt man für GABA im Mittel eine leichte Zunahme der Neuronen für alle alten Tiere. Die Linie, die den Mittelwert der jungen mit dem der alten verbindet (schwarze Linie), weicht leicht nach oben ab. Daneben ist die Zunahme der Zellzahlen mit dem Alter für Glyzin im Mittel deutlich stärker ausgeprägt. Dies lässt die Vermutung zu, dass die Anzahl glyzinerger Neurone im Alter zunimmt. Jedoch zeigten sich bei der statistischen Untersuchung mittels der Spearman Rang Korrelation, dass die Zunahme der Zellzahlen in Abhängigkeit vom Alter in dieser Stichprobe für keine der beiden Färbungen signifikant war (GABA: $p=0,188$, $N=25$; Glyzin: $p=0,179$, $N=18$).

Im Diagramm 16A weicht die Linie, die den Mittelwert der jungen Tiere und den der Gruppe Alt I verbindet (gestrichelte Linie), am stärksten nach oben ab wobei die Mittelwertslinie Jung/Alt II (gepunktete Linie) annähernd horizontal verläuft. Überprüft man, ob die Zellzahlen GABAerger Neurone unter Berücksichtigung der jungen Tiere und der Gruppe Alt I signifikant vom Alter abhängen, zeigt die Spearmann Rang Korrelation einen Signifikanzwert, der auf einen Trend für diesen Unterschied, eine Zunahme der Anzahl GABAerger Neurone bei alten Tieren mit „normaler“ AVCN-Querschnittsfläche, hinweist: $p(\text{Jung/Alt I})=0,067$. Dagegen weist der hohe Wert von $p=0,789$ darauf hin, dass es zwischen der Anzahl GABAerger Neurone junger und den Tieren der Gruppe Alt II keine Änderung der Anzahl GABAerger Neurone gibt. Beide Ergebnisse sind in Tabelle 26 aufgelistet.

Im Diagramm 16B überlagern die zwei Mittelwertlinien Jung/Alt I und Jung/Alt II die Mittelwertslinie Jung/alle Alt fast gänzlich. Dennoch zeigt sich in der Spearmann Rang Korrelation, dass die Anzahl glyzinerger Neurone beim Vergleich von jungen Tieren und der Gruppe Alt I im Alter zunimmt. Es ergibt sich einen Signifikanzwert von $p(\text{Jung/Alt I})=0,044$ (Tabelle 26). Betrachtet man bei diesem Test die jungen Tiere und die Gruppe Alt II, zeigt sich keine signifikante Änderung mit dem Alter ($p(\text{Jung/Alt II})=0,616$). Die Ergebnisse zeigen, dass das Alter einen signifikanten Einfluss auf die Anzahl glyzinerger Neurone beim Vergleich junger Tiere und der Gruppe Alt I hat, nicht aber beim Vergleich junger Tiere und der Gruppe Alt II (das kommt allerdings auch dadurch zustande, dass es nur 4 Tiere in der Alt II Gruppe gibt von denen 2 im Bereich der Werte von jungen Tieren liegen). Beide Ergebnisse finden sich in Tabelle 26.

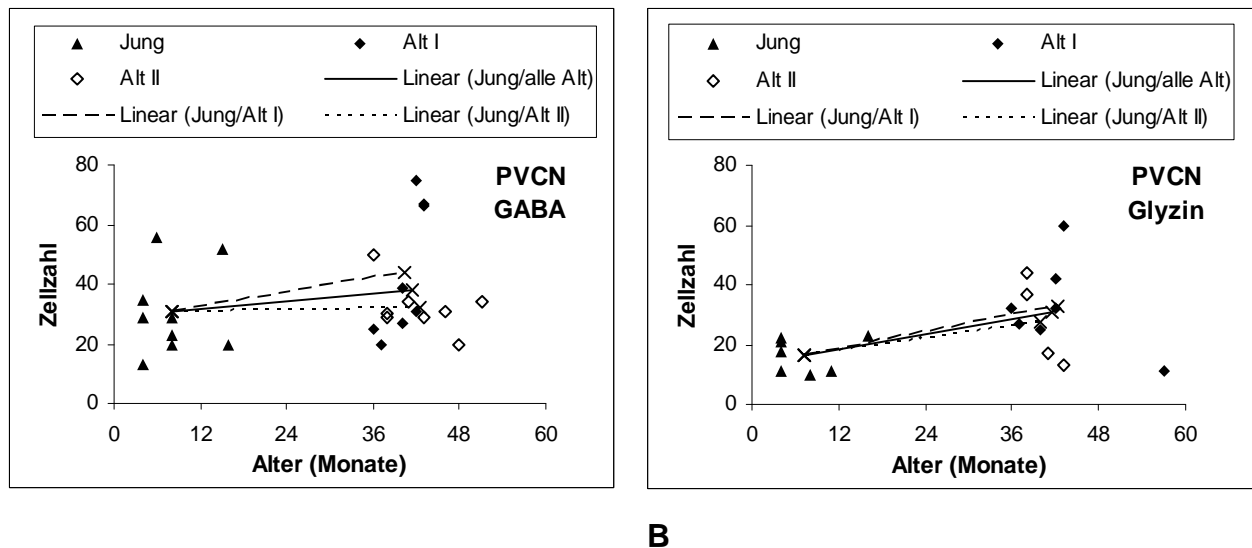
Tier (Nummer)	Alter (Monate)	PVCN	Gruppe
697	4	29	1
713	4	35	1
727	4	13	1
666	6	56	1
710	8	23	1
711	8	29	1
838	8	20	1
705	15	52	1
768	16	20	1
702	36	50	3
798	36	25	2
764	37	20	2
805	38	29	3
808	38	30	3
759	40	27	2
793	40	39	2
819	41	34	3
762	42	75	2
815	42	31	2
785	43	66	2
786	43	67	2
822	43	29	3
795	46	31	3
827	48	20	3
839	51	34	3

A

Tier (Nummer)	Alter (Monate)	PVCN	Gruppe
697	4	21	1
713	4	22	1
718	4	18	1
727	4	11	1
838	8	10	1
760	11	11	1
768	16	23	1
798	36	32	2
764	37	27	2
805	38	44	3
808	38	37	3
793	40	25	2
819	41	17	3
762	42	42	2
763	42	32	2
786	43	60	2
822	43	13	3
782	57	11	2

B**Tab. 25:** Auflistung der Zellzahlen im PVCN entsprechend dem Alter für GABA (A) und Glyzin (B).

Gruppe 1: junge Tiere; Gruppe 2: Alt I; Gruppe 3: Alt II.



Diagr. 16: Darstellung der mittleren Zellzahlen des PVCN für GABA (A) und für Glyzin (B), entsprechend dem Alter. Die dazugehörigen Werte finden sich in Tabelle 25. Die Linien verbinden die Mittelwerte der einzelnen Gruppen (vergleiche dazu die Legende).

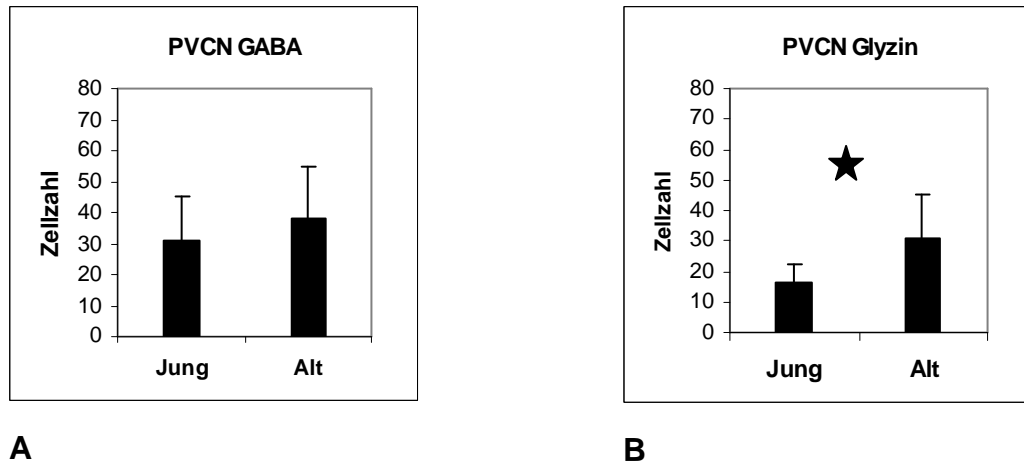
Spearman Rang Korrelation

	GABA	Glyzin
Jung/Alt	0,188	0,179
Jung/Alt I	0,067	<u>0,044</u>
Jung/Alt II	0,789	0,616

Tab. 26: Statistische Auswertung inwieweit das Alter mit der Anzahl GABAerger bzw. glyzinerger Neurone im PVCN korreliert. Die Tabelle listet die p-Werte. Statistisch signifikante Werte sind fett markiert und unterstrichen, Werte, die auf einen Trend hinweisen, sind fett markiert.

In den Säulen-Diagrammen 17A und 17B sind die Mittelwerte und Standardabweichungen der Anzahl GABAerger bzw. glyzinerger Neurone junger und aller alten Tiere gegenübergestellt. Hier wird deutlich, dass im Mittel die Anzahl GABAexprimierender Neurone im Alter um 19% und die Zellzahlen glyzinerger Neurone um 46% zunimmt. Statistische Berechnungen mit dem Mann-Withney-U Test zeigen, dass die Zunahme GABAerger Neurone nicht signifikant ist. Der Wert liegt mit $p=0,251$ nicht einmal unter dem Wahrscheinlichkeitsniveau von 0,1. Die Zunahme glyzinerger Neurone ist laut Mann-Witney-U Test signifikant ($p=0,020$). Genau wie die Spearman Rang Korrelation, die einen signifikanten Einfluß des Alters auf die Anzahl glyzinerger Neuronen bestätigt, zeigt sich durch den

Gruppenvergleich eine signifikante Zunahme der Anzahl glyzinerger Neurone bei alten Tieren (vergleiche Tabelle 26 und 27).



Diagr. 17: Gegenüberstellung der Mittelwerte mit Standardabweichungen der Anzahl GABAerger (A) und glyzinerger (B) Neurone junger und aller alten Tiere im PVCN. (Schwarzer Stern= signifikanter Zellzahlunterschied, $p < 0.05$)

Mann-Withney-U Test

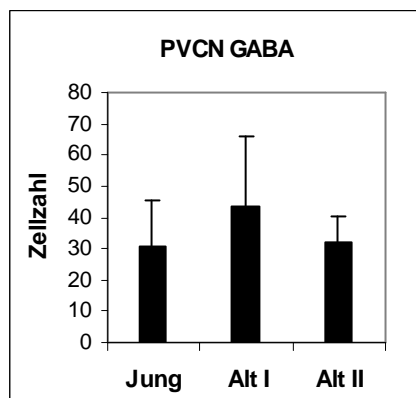
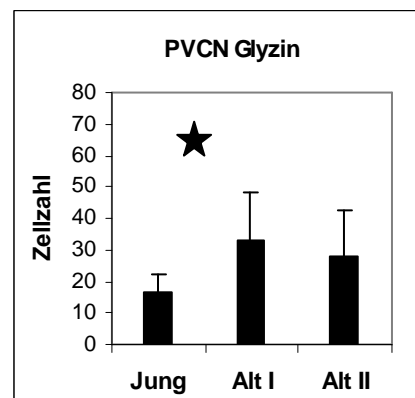
	GABA	Glyzin
Jung/Alt	0,251	<u>0,020</u>

Tab. 27: Statistische Auswertung des Zellzahlenvergleichs GABAerger bzw. glyzinerger Neurone im PVCN zwischen jungen und allen alten Tieren. Die Tabelle listet die p-Werte und zeigt einen statistisch signifikanten Unterschied der Anzahl glyzinerger Neurone junger und alter Tiere (fett/unterstrichen).

In den Säulen-Diagrammen 18A und 18B sind die Mittelwerte und Standardabweichungen der jungen Tiere, den Mittelwerten der Gruppen Alt I und Alt II gegenübergestellt. Hier zeigt sich in beiden Diagrammen, dass die Zunahme der Anzahl GABAerger und glyzinerger Neurone alter Tiere hauptsächlich bei den Alt I wiederzufinden ist. Ihre mittlere Zellzahl nimmt im Vergleich zu jungen Tieren für GABA um 30% und für Glyzin um 49% zu. Die Anzahl der Neurone von Alt II nimmt im Mittel für GABA nur um 4% und für Glyzin um 40% zu. Der Kruskal-Wallis Test zeigt im Dreiervergleich für die GABAFärbung keinen signifikanten Unterschied zwischen den 3 Gruppen Jung, Alt I und Alt II ($p=0,397$). Ein weiterer paarweiser

Vergleich der Mittelwerte zwischen Jung und Alt I, Jung und Alt II bzw. Alt I und Alt II ist nicht mehr zulässig. Für die Glyzinfärbung ergibt sich ein Wert von $p = 0,060$. Obwohl dies das Signifikanzniveau von 0.05 nicht erreicht, ergibt sich doch ein Hinweis darauf, dass Unterschiede zwischen den Gruppen existieren. Um genauere Unterschiede zwischen den drei Gruppen festzustellen, werden folglich alle miteinander paarweise mittels Mann-Whitney-U Test verglichen. Es zeigt sich, dass sich die Zellzahl junger Tiere und die der Gruppe Alt I signifikant unterscheiden. Der Signifikanzwert liegt hier bei $p = 0,011$. Vergleiche zwischen Jung mit Alt II bzw. Alt I mit Alt II zeigen keine statistisch relevanten Ergebnisse. Die Signifikanzwerte sind in Tabelle 29 aufgelistet.

Diese Analyse zeigt also für den PVCN keine Hinweise für einen Verlust von GABAergen und glyzinerger Neuronen bei alten Tieren, ja es gibt sogar Hinweise dafür, dass die Zahl glyzinerger Neurone bei alten Tieren im Vergleich zu jungen Tieren zunimmt.

**A****B**

Diagr. 18: Gegenüberstellung der Mittelwerte mit Standardabweichungen der Zellzahlen GABAerger (A) und glyzinerger (B) Neurone der Gruppe der jungen Tiere, der Gruppe Alt I und der Gruppe Alt II im PVCN. (Schwarzer Stern= signifikanter Zellzahlunterschied, $p < 0.05$)

Kruskal-Wallis Test

	GABA	Glyzin
Jung / Alt I / Alt II	0,397	0,060

Tab. 28: Statistische Auswertung des Zellzahlenvergleichs GABAerger bzw. glyzinerger Neurone im PVCN zwischen jungen Tieren, Tieren der Gruppe Alt I und Alt II. Die Tabelle listete die p-Werte und zeigt für die Glyzinfärbung einen Signifikanzwert unter 0,1 an. Das Ergebnis weist auf einen Trend hin, dass sich die Zellzahlen der drei Gruppen signifikant unterscheiden. Weiterführende Tests zum Vergleich der einzelnen Gruppen untereinander sind somit für die Glyzinfärbung eigentlich nicht zulässig.

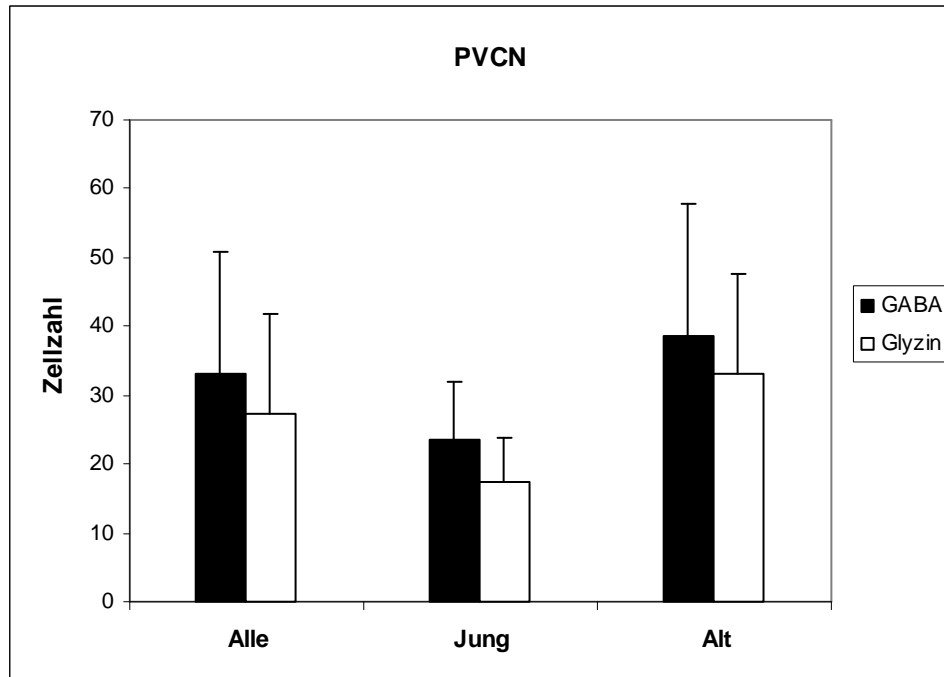
Mann-Whitney-U Test

	Glyzin
Jung/Alt I	<u>0,011</u>
Jung/Alt II	0,315
Alt I/Alt II	0,927

Tab. 29: Statistische Auswertung des Zellzahlenvergleichs glyzinerger Neurone im PVCN zwischen Jung und der Gruppe Alt I, Jung und der Gruppe Alt II bzw. Alt I und Alt II. Die Tabelle listet die p-Werte und zeigt einen statistisch signifikanten Zellzahlunterschied zwischen den jungen Tieren und der Gruppe Alt I (fett/unterstrichen). Die Berechnung dieses Tests für die GABAFärbung ist aufgrund des vorangegangenen nicht signifikanten Kruskal-Wallis Tests formal nicht zulässig.

Zum Vergleich der Anzahl GABAerger Neurone mit der Anzahl glyzinerger Neurone werden im Säulen-Diagramm 19 die Mittelwerte und Standardabweichungen GABAerger und glyzinerger Neuronenzahlen derjenigen 14 Tiere gegenübergestellt, bei denen beide Färbungen untersucht wurden. Die Werte dazu finden sich in Tabelle 30. Der Vergleich wurde für alle Tiere und zusätzlich separat für die jungen und alten Tiere durchgeführt. Hier zeigt sich wie im AVCN, dass die Anzahl GABAexprimierender Neurone bei allen Tieren höher ist, als die Anzahl glyzinexprimierender Neurone. Dies ist auch bei allen jungen und allen alten Tieren der Fall. Zur statistischen Untersuchung wird hier der Wilcoxon-Test zum Paarvergleich zweier verbundener Stichproben verwendet. Beim Vergleich über alle Tiere hinweg zeigt der Wilcoxon-Test einen Wert von $p=0,102$ (siehe Tabelle 31). Führt man diese Analyse separat für die jungen bzw. alten Tiere durch, ergeben sich ebenfalls keine signifikanten Ergebnisse. Dies kann auf die geringe Stichprobengröße zurückzuführen sein ($N(\text{Jung})=5$, $N(\text{Alt})=9$). Eine weitere Aufteilung

in Alt I und Alt II erübrigt sich, da dann die Stichprobengröße für Alt I nur noch N=5 und für Alt II nur noch N=4 beträgt.



Diagr. 19: Gegenüberstellung der Mittelwerte mit Standardabweichungen der Anzahl GABAerger und glyzinerger Neurone für alle Tiere (N = 14), alle jungen (N = 5) und alle alten Tiere (N = 9) im PVCN. Die dazugehörigen Werte finden sich in Tabelle 30.

	GABA	Glyzin
Alle	33,00+/- 17,52	27,00+/- 14,27
Jung	23,40+/- 8,62	17,40+/- 6,35
Alt	38,67+/- 19,18	33,00+/- 14,59

Tab. 30: Auflistung der Mittelwerte mit Standardabweichungen der Anzahl GABAerger und glyzinerger Neurone für alle Tiere (N = 14), alle jungen (N = 5) und alle alten Tiere (N = 9) im PVCN.

Wilcoxon-Test

	GABA/Glyzin
Alle	0,102
Jung	0,138
Alt	0,282

Tab. 31: Statistische Auswertung über den Vergleich, ob sich die Anzahl GABAerger und glyzinerger Neurone im PVCN unterscheiden. Die Tabelle listet die p-Werte und zeigt, dass in keinem Vergleich die Werte unter 0,05 liegen. Somit gibt es in dieser begrenzten Stichprobe keinen statistisch signifikanten Zellzahlunterschied zwischen GABAergen und glyzinerger Neuronen für alle Tiere, alle jungen und alle alten Tiere.

3.2 Untersuchung der Zelldichte GABAerger und glyzinerger Neurone im PVCN

Bei der Untersuchung altersabhängiger Effekte der Zelldichte (Zellzahl pro mm²) GABA- bzw. glyzinerger Neurone wird der PVCN zuerst im Ganzen betrachtet. Anschließend wird untersucht ob es Dichteunterschiede in und zwischen den dorsalen und ventralen Teilbereichen des PVCN gibt. Die Unterteilung wurde aus funktionellen Gesichtspunkten vorgenommen. Im dorsalen Bereich befinden sich hauptsächlich exzitatorisch wirkende „octopus cells“. Ihre Funktion ist im Hörsystem eine völlig andere, als die der teilweise inhibitorisch wirkenden „multipolar cells“ im ventralen Bereich (Cant, 1991, 2003). Es ist deshalb zu untersuchen, ob Unterschiede in diesen Bereichen bestehen, auch im Hinblick auf Veränderungen im Alter.

Bei den statistischen Analysen zur Untersuchung der Dichte wird genau so verfahren, wie bei der Untersuchung der Dichte GABAerger und glyzinerger Neurone im AVCN (Kapitel 2.2).

3.2.1 Zelldichte im gesamten PVCN

Die Zelldichten als Funktion des Alters für den PVCN sind in den Diagrammen 20A für die GABA-Färbung und in 20B für die Glyzinfärbung dargestellt. Die beiden Gruppen Alt I und Alt II sind wieder durch unterschiedliche Symbole gekennzeichnet und die Mittelwerte der einzelnen Gruppen durch Linien verbunden. Die einzelnen Werte zu Alter und Dichte finden sich für GABA in Tabelle 32A und für Glyzin in 32B. Vergleicht man in den Diagrammen 20A und 20B die jungen Tiere mit allen alten, bleiben für die GABAFärbung die Neuronendichten annähernd gleich. Die durchgezogene Linie, die die Mittelwerte junger und alter Tiere verbindet, verläuft für die GABA Färbung annähernd horizontal. Bei der Glyzinfärbung scheinen die Dichten aller alten Tiere im Vergleich zu denen junger Tiere zuzunehmen. Bei der statistischen Untersuchung eines altersbedingten Effekts unter Einbeziehung aller alten Tiere mittels der Spearmann Rang Korrelation ist weder für die GABA- noch für die Glyzinfärbung eine altersabhängige Dichteänderung festzustellen. Beide Signifikanzwerte liegen über 0,05, vergleiche dazu Tabelle 33. Diese Ergebnisse sind auch vereinbar mit der Tatsache, dass die Anzahl der Neurone beider Färbungen mit der Querschnittsfläche korrelieren (vergleiche Kapitel 3.1).

Die Dichten der Tiere Alt I scheinen unter den alten Tieren bei beiden Färbungen am stärksten zuzunehmen. Die gestrichelten Linien, die den Mittelwert der jungen mit dem der Gruppe Alt I verbinden, weichen nach oben ab. Die Dichten der Gruppe Alt II nehmen dagegen weniger stark zu. Überprüft man, ob die Dichten unter Berücksichtigung der jungen Tiere und der Gruppe Alt I signifikant vom Alter abhängen, zeigt die Spearmann Rang Korrelation für GABA eine signifikante Zunahme: $p(\text{Jung/Alt I})=0,047$. Für Glyzin ergibt sich keine signifikante Änderung mit dem Alter. Dies könnte an der geringeren Stichprobengröße und der weiten Streuung liegen. Im PVCN nimmt somit nur die Dichten GABAerger Neurone der Gruppe Alt I im Alter signifikant zu.

Überprüft man, ob die Dichten unter Berücksichtigung der jungen Tiere und der Gruppe Alt II signifikant vom Alter abhängen, zeigt die Spearmann Rang Korrelation für beide Färbungen keine signifikanten Werte.

Die Werte der Spearman Rang Korrelation zur Untersuchung eines alterabhängigen Effektes sind für beide Färbungen in Tabelle 33 aufgeführt.

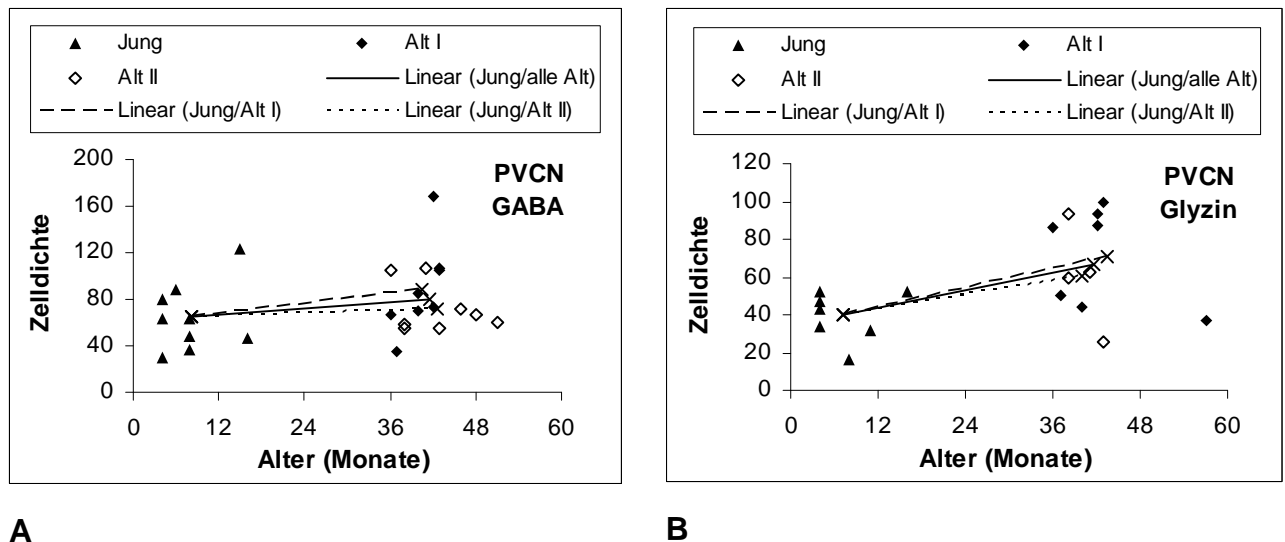
Tier (Nummer)	Alter (Monate)	PVCN	Gruppe
697	4	63,21	1
713	4	80,07	1
727	4	30,53	1
666	6	88,36	1
710	8	48,50	1
711	8	63,47	1
838	8	37,17	1
705	15	122,61	1
768	16	46,99	1
702	36	104,94	3
798	36	65,89	2
764	37	35,76	2
805	38	57,92	3
808	38	55,10	3
759	40	85,10	2
793	40	69,88	2
819	41	107,01	3
762	42	168,54	2
815	42	74,03	2
785	43	106,83	2
786	43	104,39	2
822	43	55,63	3
795	46	71,84	3
827	48	67,14	3
839	51	59,41	3

A

Tier (Nummer)	Alter (Monate)	PVCN	Gruppe
697	4	52,81	1
713	4	43,28	1
718	4	46,82	1
727	4	34,32	1
838	8	16,85	1
760	11	31,81	1
768	16	52,50	1
798	36	85,82	2
764	37	50,27	2
805	38	93,79	3
808	38	59,13	3
793	40	44,52	2
819	41	62,77	3
762	42	92,98	2
763	42	87,15	2
786	43	99,86	2
822	43	25,32	3
782	57	37,29	2

B

Tab. 32: Auflistung der Zelldichten (pro mm²) im PVCN entsprechend dem Alter für GABA (A) und Glyzin (B). Gruppe 1: junge Tiere; Gruppe 2: Alt I; Gruppe 3: Alt II.



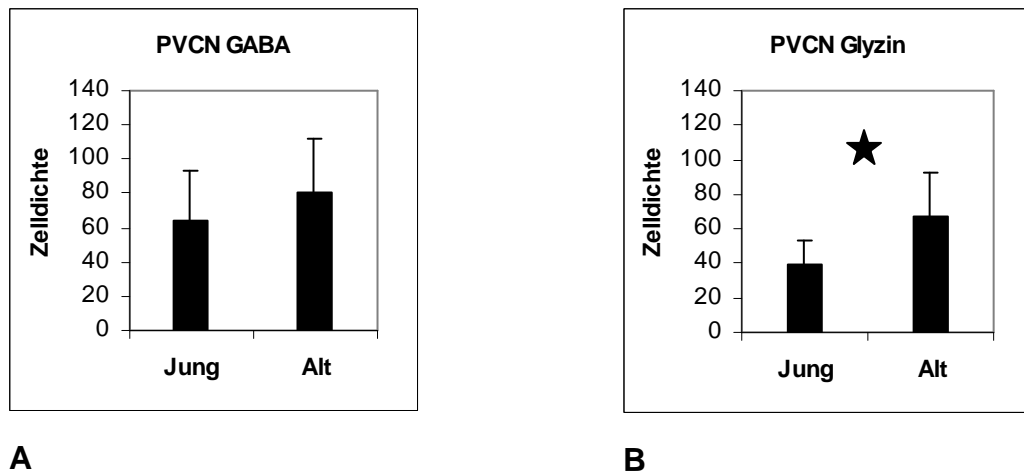
Diagr. 20: Darstellung der mittlere Zelldichten (pro mm²) des PVCN für GABA (A) und Glyzin (B), entsprechend dem Alter. Die dazugehörigen Werte finden sich in Tabelle 32. Die Linien verbinden die Mittelwerte der einzelnen Gruppen (vergleiche dazu die Legende).

Spearman Rang Korrelation

	GABA	Glyzin
Jung/Alt	0,712	0,175
Jung/Alt I	<u>0,047</u>	0,109
Jung/Alt II	0,610	0,481

Tab. 33: Statistische Auswertung inwieweit das Alter mit der Dichte GABAerger- bzw. glyzinerger Neurone im PVCN korreliert. Dabei wurden separate Analysen durchgeführt, in die jeweils junge und allen alten Tieren, junge und die der Gruppe Alt I bzw. junge und die der Gruppe Alt II mit einbezogen wurden. Die Tabelle listet die p-Werte und zeigt bei der Korrelation über die jungen Tiere und der Gruppe Alt I einen Wert unter 0,05 (fett/unterstrichen). Somit zeigt das Alter einen signifikanten Einfluß auf die Dichte GABAerger Neurone der Gruppe Alt I.

In den Säulen-Diagrammen 21A und 21B sind die Mittelwerte mit Standardabweichungen der Zelldichten für die jungen und alten Tiere jeweils für GABA- bzw. für glyzinexprimierende Neurone gegenübergestellt. Im Mittel nimmt die Zelldichte GABAerger Neurone um 20% und die Zelldichte glyzinerger Neurone um 41% zu. Beim Gruppenvergleich junger und alter Tiere durch den Mann-Withney-U Test zeigte sich der mittlere Dichteunterschied von 41% bei der Glyzinfärbung als signifikant ($p=0,035$). Die Dichten GABAerger Neurone junger und alter Tiere unterscheiden sich statistisch nicht; vergleiche dazu Tabelle 34.



Diagr. 21: Gegenüberstellung der Mittelwerte mit Standardabweichungen der Zelldichten GABAerger (A) und glyzinerger (B) Neurone junger und aller alten Tiere im PVCN. (Schwarzer Stern= signifikanter Dichteunterschied, $p < 0.05$)

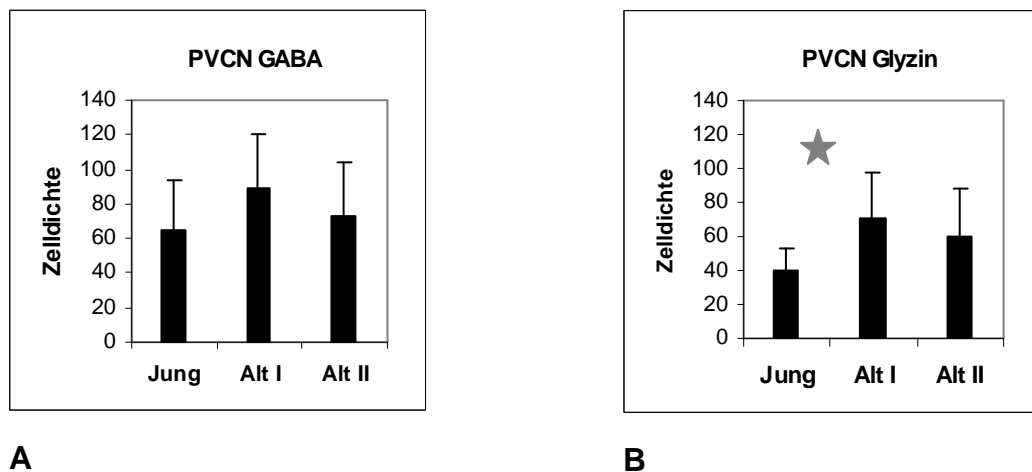
Mann-Withney-U Test

	GABA	Glyzin
Jung/alle Alten	0,207	<u>0,035</u>

Tab. 34: Statistische Auswertung des Dichtevergleichs GABAerger bzw. glyzinerger Neurone im PVCN zwischen jungen und allen alten Tieren. Die Tabelle listet die p-Werte und zeigt zwischen den Dichten glyzinerger Neurone junger und aller alten Tiere statistisch signifikante Unterschiede (fett/unterstrichen).

In den Säulendiagrammen 22A und 22B sind die Mittelwerte und Standardabweichungen der jungen Tiere den Mittelwerten beider Gruppen Alt I und Alt II gegenübergestellt. Hier zeigt sich für beide Färbungen, dass die Dichtezunahme bei der Gruppe Alt I unter den alten Tieren am stärksten ausfällt. Die Dichtewerte der Gruppe Alt II sind zwar im Mittel höher als die Werte der jungen Tiere, erreichen aber die Werte der Gruppe Alt I nicht. Untersucht man mittels des Kruskal-Wallis Test Dichteunterschiede innerhalb der drei Altersgruppen, zeigt dieser für die Glyzinfärbung einen Signifikanzwert von $p=0,099$ (vergleiche Tabelle 35). Dies ist zwar kein signifikantes Ergebnis, gibt aber einen Trend an, dass sich die drei Gruppen Jung, Alt I und Alt II der Glyzinfärbung in ihrer Dichte unterscheiden. Um genauere Unterschiede zwischen den drei Gruppen festzustellen, werden alle miteinander paarweise mittels Mann-Withney-U Test verglichen. Nur beim Vergleich der Dichten junger Tiere und der Gruppe Alt I zeigt sich ein Wert von $p=0,053$. Dieser

Wert weist auf einen Trend hin, dass die Dichte glyzinerger Neurone bei Tieren der Gruppe Alt I im Vergleich zu jungen Tieren zunimmt. Ebenso weist das Ergebnis darauf hin, dass sich der signifikante Dichteunterschied glyzinerger Neurone zwischen jungen und alten Gerbils (Diagramm 21B) bei den alten Tieren widerspiegelt, deren AVCN-Querschnittsfläche im Vergleich zu jungen Tieren unverändert blieb (Alt I). Bei der Bewertung des Unterschieds in der Zelldichte zwischen Jung und Alt I muss kritisch berücksichtigt werden, dass beim Kruskal-Wallis Vergleich der 3 Gruppen nur ein Signifikanzwert von $p = 0,099$ erreicht wurde. Beim Vergleich von Jung mit Alt II bzw. Alt I mit Alt II ergaben sich keine signifikanten Ergebnisse. Die p-Werte des Mann-Whitney-U Tests sind in Tabelle 36 aufgeführt. Für die GABAfärbung ergab der Kruskal-Wallis Test einen Wert von $p=0,272$. Einen Dichteunterschied zwischen jungen Tieren, Alt I und Alt II gibt es nicht. Hier sind weitere statistische Tests zum Vergleich von Jung mit Alt I, Jung mit Alt II und Alt I mit Alt II mittels des Mann-Whitney-U Tests nicht zulässig. Die Ergebnisse des Kruskal-Wallis Test sind in Tabelle 35 zusammengefasst.



Diagr. 22: Gegenüberstellung der Mittelwerte mit Standardabweichungen der Zelldichten GABAerger (A) und glyzinerger (B) Neurone der Gruppe der jungen Tiere, der Gruppe Alt I und der Gruppe Alt II im PVCN. (Grauer Stern= Dichteunterschied mit tendenzieller Wahrscheinlichkeit, $p < 0.1$).

Kruskal-Wallis Test

	GABA	Glyzin
Jung / Alt I / Alt II	0,272	0,099

Tab. 35: Statistische Auswertung des Dichtevergleichs GABAerger bzw. glyzinerger Neurone im PVCN zwischen jungen Tieren, Tiere der Gruppe Alt I und Alt II. Die Tabelle listete die p-Werte und zeigt für die Glyzinfärbung einen Signifikanzwert unter 0,1 an. Das Ergebnis weist auf einen Trend hin, dass sich die Dichtewerte der drei Gruppen signifikant unterscheiden.

Mann-Whitney-U Test

	Glyzin
Jung/Alt I	0,053
Jung/Alt II	0,164
Alt I/Alt II	0,788

Tab. 36: Statistische Auswertung des Dichtevergleichs glyzinerger Neurone im PVCN zwischen Jung und der Gruppe Alt I, Jung und der Gruppe Alt II und Alt I und Alt II. Die Tabelle listet die p-Werte und zeigt für den Vergleich der Dichten junger Tiere und der Gruppe Alt I einen Signifikanzwert unter 0,1 an. Das Ergebnis weist auf einen Trend hin, dass sich die Dichtewerte der beiden Gruppen signifikant unterscheiden. Die Berechnung dieses Tests für die GABAfärbung ist aufgrund des vorangegangenen nicht signifikanten Kruskal-Wallis Test formal nicht zulässig.

3.2.2 Zelldichte im dorsalen und ventralen PVCN

Für den PVCN bleibt noch die Frage offen, ob sich jeweils im dorsalen und ventralen Bereich des PVCN ein altersbedingter Unterschied in der Neuronendichte zeigt.

Dazu sind in den Diagrammen 23A für GABA und 23B für Glyzin für die beiden Bereiche die Mittelwerte und die Standardabweichungen junger und alter Gerbils nebeneinander aufgetragen. In Tabelle 37A und 37B sind für GABA und Glyzin die einzelnen Dichten der zwei Bereiche aufgelistet.

Beim Vergleich der Dichtemittelwerte junger und alter Tiere im Diagramm 23A fällt auf, dass in beiden Bereichen die Dichten der alten Tiere etwas höher sind als die der jungen Tiere. Statistische Analysen mittels der Spearmann Rang Korrelation, die den Einfluss des Alters auf die Dichten GABAerger Neurone von Jung und unter Einbeziehung aller alten Tieren bestimmt, zeigt, dass im dorsalen Bereich die

Dichten GABAerger Neurone mit dem Alter korrelieren und weist darauf hin, dass die Dichten GABAerger Neurone bei alten Tieren im dorsalen PVCN signifikant zunehmen. Der Signifikanzwert liegt hier bei 0,022. Für den ventralen Bereich liegt der p-Wert bei 0,424 (vergleiche Tabelle 38). Vergleicht man die Dichtemittelwerte GABAerger Neurone junger Tiere mit denen aller alten Tiere mittels des Mann-Whitney-U Tests jeweils für den dorsalen und ventralen Bereich des PVCN, ergibt sich für den dorsalen Bereich ein Wert von $p=0,095$. Dieser Werte ist zwar nicht signifikant, weist aber auf einen Trend hin, dass die Dichten GABAerger Neurone im dorsalen Teil des PVCN im Alter im Mittel höhere Dichten aufweisen, als bei jungen Tieren. Für den ventralen Bereich ergibt sich wie in der Spearman Rang Korrelation kein signifikantes Ergebnis ($p = 0.329$; vergleiche dazu Tabelle 38 und 39).

Vergleicht man die Dichtemittelwerte glyzinerger Neurone im Diagramm 23B, ist im dorsalen Bereich des PVCN zwischen jungen und alten Tieren fast kein Dichteunterschied zu erkennen. Im ventralen Bereich dagegen besteht eine deutliche Zunahme der mittleren Dichte alter Tiere im Vergleich zu jungen Tieren. Statistische Berechnungen mittels der Spearmann Rang Korrelation und auch mittels des Mann-Whitney-U Tests ergeben beim Vergleich junger mit alten Tieren für den dorsalen Bereich des PVCN keine Hinweise auf einen signifikanten Einfluss des Alters bzw. einen Dichteunterschied glyzinerger Neurone junger und alter Gerbils. Berechnungen für den ventralen Bereich des PVCN ergeben für die Spearman Rang Korrelation einen Wert von $p=0,068$. Dieses Ergebnis weist auf einen Trend hin, dass das Alter einen signifikanten Einfluss auf die Dichtewerte glyzinerger Neurone alter Tiere im ventralen Bereich des PVCN hat; die Dichte nimmt zu. Vergleicht man hier die Dichtemittelwerte durch den Mann-Whitney-U Test, ergibt sich ein signifikanter Wert von $p=0,011$. Im ventralen Bereich des PVCN sind die Dichtemittelwerte glyzinerger Neurone alter Tiere signifikant höher als die der jungen. Zusammen mit dem Ergebnis der Spearman Rang Korrelation ($p=0,068$) ergibt sich für den ventralen Bereich des PVCN, dass im Alter die Dichte glyzinerger Neurone zunimmt. Die Ergebnisse für die Rangkorrelation sind in Tabelle 38 und für den Gruppenvergleich in Tabelle 39 aufgeführt.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass im PVCN keine Hinweise für eine Abnahme der Dichte inhibitorischer Neurone mit dem Alter auftrat. Vielmehr stellte sich heraus, dass die Dichte glyzinerger Neurone im ventralen Bereich des PVCN altersbedingt signifikant zunahm, während es für den dorsalen Oktopuszellbereich

des PVCN Hinweise für eine altersbedingte Zunahme der Dichte GABAerger Neurone gab (Diagramm 23).

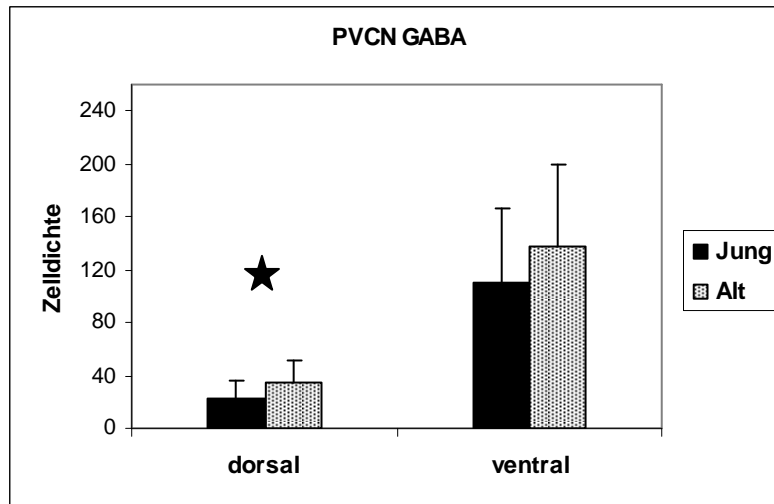
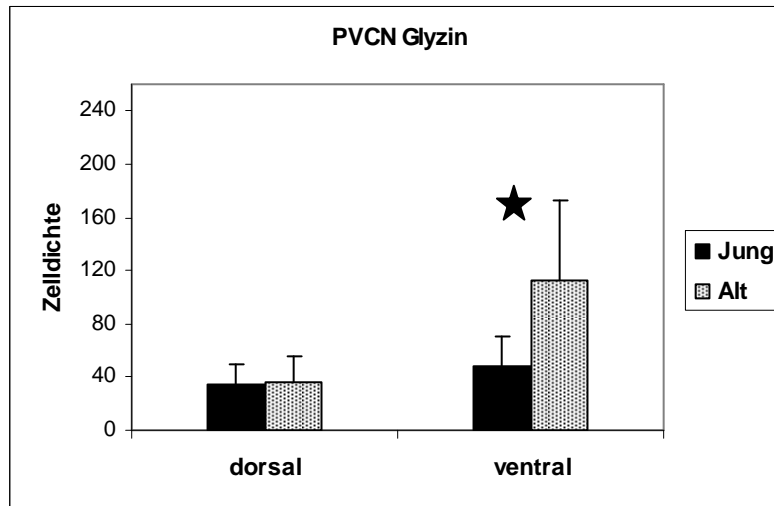
Tier (Nummer)	Alter (Monate)	PVCN dorsal	PVCN ventral	Gruppe	
697	4	10,19	158,15	1	
713	4	28,12	115,69	1	
727	4	11,16	44,59	1	
666	6	22,33	174,23	1	
710	8	11,73	91,55	1	
711	8	15,06	100,86	1	
838	8	34,59	40,17	1	
705	15	51,75	193,78	1	
768	16	24,45	77,68	1	
702	36	49,07	163,83		3
798	36	39,87	116,64	2	
764	37	14,00	58,45	2	
805	38	29,76	76,91		3
808	38	12,77	112,44		3
759	40	12,13	164,08	2	
793	40	31,91	131,26	2	
819	41	47,54	223,57		3
762	42	19,27	299,01	2	
815	42	45,95	104,40	2	
785	43	71,44	136,16	2	
786	43	25,76	198,32	2	
822	43	16,11	113,75		3
795	46	32,35	143,53		3
827	48	51,97	88,19		3
839	51	45,26	82,27		3

A

Tier (Nummer)	Alter (Monate)	PVCN dorsal	PVCN ventral	Gruppe	
697	4	52,76	52,89	1	
713	4	47,99	37,90	1	
718	4	39,02	55,73	1	
727	4	31,33	37,29	1	
838	8	4,82	23,31	1	
760	11	27,36	39,53	1	
768	16	35,60	92,93	1	
798	36	57,94	149,13	2	
764	37	37,37	69,46	2	
805	38	62,21	115,85		3
808	38	8,14	132,25		3
793	40	37,33	56,25	2	
819	41	53,96	73,41		3
762	42	48,11	148,28	2	
763	42	37,31	221,80	2	
786	43	21,90	188,41	2	
822	43	3,50	52,77		3
782	57	36,72	37,77	2	

B

Tab. 37: Auflistung der Zelldichten (pro mm²) für den dorsalen und den ventralen Teil des PVCN entsprechend dem Alter für GABA (A) und Glyzin (B). Gruppe 1: junge Tiere; Gruppe 2: Alt I; Gruppe 3: Alt II.

**A****B**

Diagr. 23: Gegenüberstellung der Dichtemittelwerte und Standardabweichungen für GABA (A) und für Glyzin (B), junger und aller alter Tiere für den dorsalen und den ventralen Bereich des PVCN. (Schwarzer Stern= signifikanter Dichteunterschied, $p < 0.05$)

Spearman Rang Korrelation

Jung/Alt	GABA	Glyzin
dorsal	<u>0,022</u>	0,533
ventral	0,424	0,068
Jung/Alt I		
dorsal	0,068	0,624
ventral	0,130	<u>0,048</u>
Jung/Alt II		
dorsal	<u>0,018</u>	0,632
ventral	0,963	0,110

Tab. 38: Statistische Auswertung inwieweit das Alter mit der Dichte GABAerger bzw. glyzinerger Neurone im dorsalen und ventralen Bereich des PVCN korreliert. Dabei wurden separate

Analysen durchgeführt, in die jeweils die jungen und allen alten Tieren, die jungen und die der Gruppe Alt I bzw. die jungen und die der Gruppe Alt II mit einbezogen wurden. Die Tabelle listet die p-Werte. Statistisch signifikante Werte sind fett markiert und unterstrichen; Werte, die auf einen Trend hinweisen, sind fett markiert. Für die GABAfärbung zeigen sich statistische Signifikanzen im dorsalen Bereich, für die Glyzinfärbung im ventralen Bereich.

Mann-Whitney-U Test

Jung/Alt	GABA	Glyzin
dorsal	0,095	0,596
ventral	0,329	<u>0,011</u>

Tab. 39: Statistische Auswertung des Dichtevergleichs GABAerger bzw. glyzinerger Neurone für den dorsalen und ventralen Bereich des PVCN zwischen jungen und allen alten Tieren. Die Tabelle listet die p-Werte. Statistisch signifikante Werte sind fett markiert und unterstrichen; Werte, die auf einen Trend hinweisen, sind fett markiert.

Um einen Vergleich der Dichten der beiden Tiergruppen Alt I und Alt II zu den Dichten junger Tiere für die beiden Bereiche des PVCN vornehmen zu können, wurde in dem Säulen-Diagrammen 24A für die GABAfärbung und in dem Säulen-Diagramm 24B für die Glyzinfärbung die Dichtemittelwerte und Standardabweichungen junger Tiere, die der Gruppe Alt I und Alt II für den dorsalen und den ventralen Bereich gegenübergestellt.

Für die GABAfärbung fällt auf, dass in beiden Bereichen des PVCN die Dichtemittelwerte beider Altersgruppen Alt I und Alt II höher sind, als die der jungen. Im dorsalen Bereich sind die Werte von Alt II etwas höher als die von Alt I. Im ventralen Bereich haben im Mittel die Gruppe Alt I die größten Dichtewerte. Untersucht man mittels der Spearmann Rang Korrelation für alle zwei Bereiche des PVCN eine mögliche Abhängigkeit der Dichten GABAerger Neurone vom Alter für die zwei Gruppen Alt I und Alt II, in dem man die Dichten der jungen Tiere und entweder die der Gruppe Alt I oder Alt II einbezieht, ergeben sich im dorsalen Bereich statistisch relevante Ergebnisse: unter Einbeziehung von Jung und Alt I erreicht die Spearman Rang Korrelation einen Signifikanzwert von $p=0,068$. Dieses Ergebnis weist auf einen Trend hin, dass das Alter einen signifikanten Einfluss auf die Dichtewerte GABAerger Neurone beim Vergleich von jungen Tieren und der Gruppe Alt I im dorsalen Teil des PVCN hat. Untersucht man Jung und Alt II dahingehend, ob

das Alter Einfluß auf die Dichtewerte hat, bestätigt dies die Spearman Rang Korrelation mit einem Signifikanzwert von $p=0,018$. Für beide Gruppen alter Tiere weist diese Analyse auf eine altersbedingte Zunahme der Dichte GABAerger Neurone im dorsalen Oktopuszellbereich des PVCN hin. Für den ventralen Bereich des PVCN ergeben sich unter Einbeziehung von Jung und Alt I bzw. Alt II keine signifikanten Alterseffekte bei der Dichte GABAerger Neurone ($p > 0,05$). Die Ergebnisse der Rangkorrelation für die zwei Teilbereiche des PVCN, in der die Dichten GABAerger Neurone junger Tiere mit denen aus der Gruppe Alt I und aus der Gruppe Alt II verglichen werden, sind in Tabelle 38 aufgeführt.

Bei der Glyzinfärbung sind im dorsalen Bereich die Dichtemittelwerte der Gruppe Alt I etwas größer als die der jungen Tiere, die Dichten der Gruppe Alt II sind im Mittel geringer als die der Jungen. Im ventralen Bereich ist zwischen den Dichtemittelwerten der jungen Tiere und denen von Alt I ein deutlicher Unterschied zu erkennen, der jedoch für die Gruppe Alt II weniger stark ausfällt. Untersucht man mittels der Spearmann Rang Korrelation für alle zwei Bereiche des PVCN eine mögliche Abhängigkeit der Dichten glyzinerger Neurone vom Alter für die zwei Gruppen Alt I und Alt II, in dem man die Dichten der jungen Tiere und entweder die der Gruppe Alt I oder Alt II einbezieht, ergibt sich im Gegensatz zu GABA im ventralen Bereich ein statistisch relevantes Ergebnis. Mit einem Signifikanzwert von $p=0,048$ ergibt sich ein signifikanter Einfluss des Alters auf die Dichtewerte glyzinerger Neurone der Gruppe Alt I. Für Alt II ergibt sich im ventralen Bereich kein signifikantes Ergebnis, hier ist zu berücksichtigen, dass in der Gruppe Alt II nur eine Stichprobe von 4 Tieren vorlag. Für den dorsalen Bereich ergeben sich unter Einbeziehung von Jung und Alt I bzw. Alt II keine Werte unter 0,05. Das Alter zeigt weder unter Einbeziehung von Alt I noch von Alt II einen signifikanten Einfluss auf die Dichten glyzinerger Neurone im dorsalen Bereich des PVCN. Die Ergebnisse der Rangkorrelation für die zwei Teilbereiche des PVCN, in der die Dichten glyzinerger Neurone junger Tiere mit denen aus der Gruppe Alt I und aus der Gruppe Alt II verglichen werden, sind in Tabelle 38 aufgeführt.

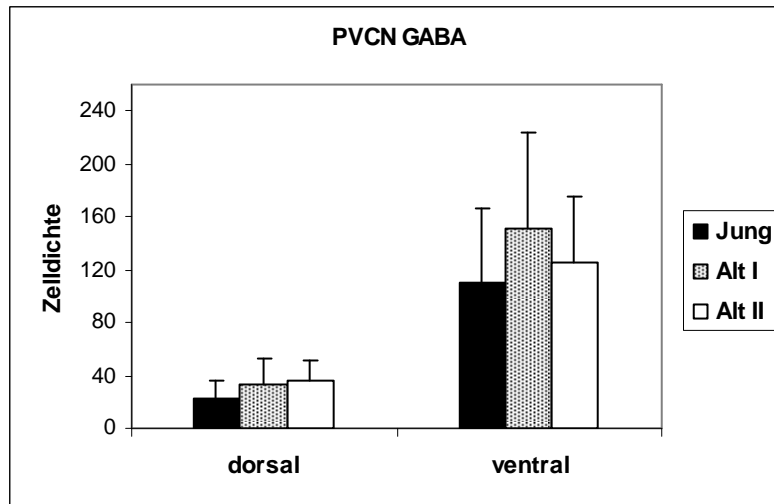
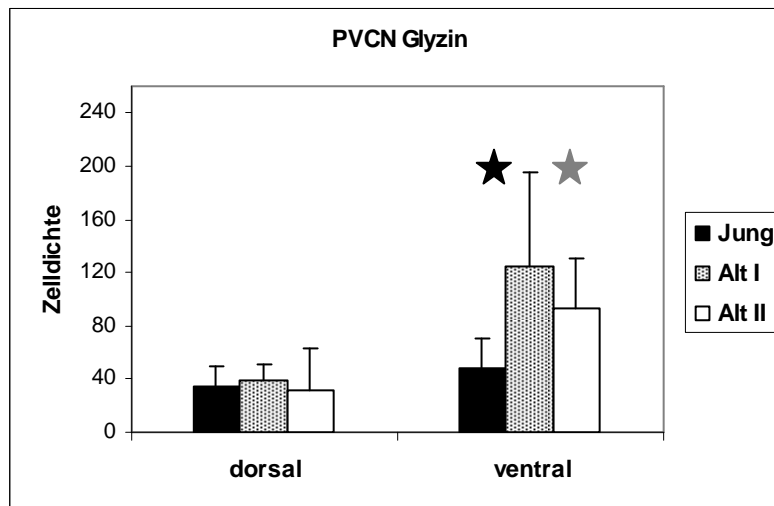
Um einen zweiten Test neben der Rangkorrelation durchführen zu können, werden zuerst die Dichtemittelwerte der drei Altersgruppen für den dorsalen und ventralen Bereich des PVCN mittels des Kruskal-Wallis Test verglichen.

Für die GABAFärbung im dorsalen und ventralen Teil des PVCN zeigen sich keine signifikanten Unterschiede innerhalb der drei Gruppen Jung, Alt I, Alt II. Der p-Wert

liegt hier für den dorsalen Bereich bei 0,188 und im ventralen Bereich bei 0,403. Weitere Vergleiche mit dem Mann-Whitney-U Test von Jung mit Alt I, Jung mit Alt II und Alt I mit Alt II sind in diesen Bereichen des PVCN nicht zulässig. Für die Glyzinfärbung wird nur im ventralen Teil ein signifikanter Unterschied zwischen den Dichtemittelwerten von Jung, Alt I und Alt II erreicht. Der Signifikanzwert liegt hier bei 0,011. Für den dorsalen Bereich liegt der p-Wert weit über 0,05. Sämtliche Werte des Kruskal-Wallis Test sind in Tabelle 40 aufgelistet.

Für den ventralen Bereich des PVCN der Glyzinfärbung werden nun neben der Spearmann Rang Korrelation die Dichten der jungen Tiere mit den Dichten der Tiere aus den beiden Gruppen Alt I und Alt II bzw. die Dichten von Alt I mit Alt II mit dem Mann-Whitney-U Test verglichen; vergleiche dazu Diagramm 24B.

Beim Vergleich der Dichten junger Tiere mit denen der Gruppe Alt I ergibt sich ein signifikanter Unterschied mit $p=0,026$. Die oben gemachte Vermutung bestätigt sich: die deutliche Zunahme der Dichtemittelwerte von Alt I erweist sich als signifikant. Der weiter oben beschriebene signifikante Unterschied zwischen jungen Tieren und allen alten äußert sich vor allem durch die Gruppe Alt I. Der Vergleich von Jung mit Alt II erreicht nur noch einen Wert von $p=0,073$. Dieser Wert ist zwar nicht signifikant, weist aber auf einen Trend hin (insbesondere angesichts der geringen Anzahl der Tiere in der Gruppe Alt II), dass die Dichten glyzinerger Neurone der Alt II Tiere im ventralen Bereich des PVCN signifikant größer sind als die der jungen Tiere. Beim Vergleich der Dichten von Alt I mit Alt II ergibt sich kein signifikanter Unterschied. Die Ergebnisse des Mann-Whitney-U Tests für den Vergleich der Dichten von Jung/Alt I, Jung/Alt II und Alt I/Alt II für den ventralen Bereich des PVCN in der Glyzinfärbung sind in Tabelle 41 zusammengefasst.

**A****B**

Diagr. 24: Gegenüberstellung der Dichtemittelwerte mit Standardabweichungen für GABA (A) und für Glyzin (B), junger Tiere und der Gruppen Alt I und Alt II, für den dorsalen und ventralen Bereich des PVCN. (Schwarzer Stern= signifikanter Dichteunterschied, $p < 0.05$; grauer Stern= Dichteunterschied mit tendenzieller Wahrscheinlichkeit, $p < 0.1$)

Kruskal-Wallis Test

Jung / Alt I / Alt II	GABA	Glyzin
dorsal	0,188	0,809
ventral	0,403	<u>0,040</u>

Tab. 40: Statistische Auswertung des Dichtevergleichs GABAerger bzw. glyzinerger Neurone im PVCN zwischen jungen Tieren, Tiere der Gruppe Alt I und Alt II für den dorsalen und ventralen Bereich des PVCN. Die Tabelle listete die p-Werte und zeigt für die Glyzinfärbung im ventralen Bereich einen Signifikanzwert unter 0,05 (fett/unterstrichen).

Für diesen Bereich gibt es einen statistisch signifikanten Dichteunterschied glyzinerger Neurone innerhalb der drei Altersgruppen.

Mann-Whitney-U Test

ventral	Glyzin
Jung/Alt I	<u>0,026</u>
Jung/Alt II	0,073
Alt I/Alt II	0,527

Tab. 41: Statistische Auswertung des Dichtevergleichs glyzinerger Neurone für den ventralen Bereich des PVCN zwischen Jung und der Gruppe Alt I, Jung und der Gruppe Alt II und Alt I und Alt II. Die Tabelle listet die p-Werte. Statistisch signifikante Werte sind fett markiert und unterstrichen; Werte, die auf einen Trend hinweisen, sind fett markiert. Die Berechnung dieses Tests für den dorsalen Teil und für die GABAfärbung ist aufgrund des vorangegangenen nicht signifikanten Kruskal-Wallis Test formal nicht zulässig.

3.2.3 Vergleiche zwischen dorsalen und ventralen PVCN

Diagramm 23 zeigt, dass für GABA die Zelldichte im ventralen PVCN deutlich höher als im dorsalen Oktopuszellbereich liegt. Hier wäre ein signifikanter Dichteunterschied der jeweiligen Altersgruppen zwischen ventralen und dorsalen Bereich des PVCN zu erwarten. Für glyzinerge Neurone zeigt sich bei alten Tieren ein sehr viel deutlicherer Unterschied zwischen dem dorsalen und ventralen PVCN als für die jungen Tiere (vergleiche Diagramm 23B).

Um Dichteunterschiede GABAerger und glyzinerger Neurone zwischen ventralen und dorsalen Bereich des PVCN jeweils für die jungen Tiere und alten Tiere festzustellen, werden die Dichten der beiden Bereiche jeweils als zwei verbunden Stichproben durch den Wilcoxon-Test verglichen. In der GABAfärbung gibt es zwischen den beiden Bereichen sowohl für die jungen, als auch für die alten Tiere hochsignifikante Unterschiede. In der Glyzinfärbung erreicht der Vergleich der Dichten junger Tiere zwischen ventralen und dorsalen Teil nur einen Wert von $p=0,063$. Dieser Wert weist nur auf einen Trend hin, dass die Dichten glyzinerger Neurone im ventralen Bereich des PVCN signifikant größer sind als die Dichten glyzinerger Neurone im dorsalen Bereich. Hier ist anzumerken, dass bei 7 jungen Tieren, die zum Vergleich standen,

bei nur einem Tier die Dichte glyzinerger Neurone im dorsalen PVCN größer war als im ventralen und sonst stets die Dichten im ventralen PVCN größer waren (vergleiche Tabelle 37B). Beim Vergleich über alle Alten ist der Dichteunterschied glyzinerger Neurone zwischen den beiden Bereichen wieder hoch signifikant. Die Ergebnisse des Wilcoxon-Tests sind in Tabelle 42 zusammengefasst. Vollständigkeitshalber sind hier die Vergleiche der Neuronendichten beider Transmitter der Gruppen Alt I bzw. Alt II zwischen dorsalen und ventralen PVCN aufgelistet.

Zusammenfassend zeigt diese Analyse, dass die Dichten GABAerger und glyzinerger Neurone im ventralen PVCN höher liegt als im dorsalen PVCN.

Wilcoxon-Test		
	GABA	Glyzin
Jung	<u>0,008</u>	0,063
alle Alt	<u><0,001</u>	<u>0,003</u>
Alt I	<u>0,012</u>	<u>0,018</u>
Alt II	<u>0,012</u>	0,068

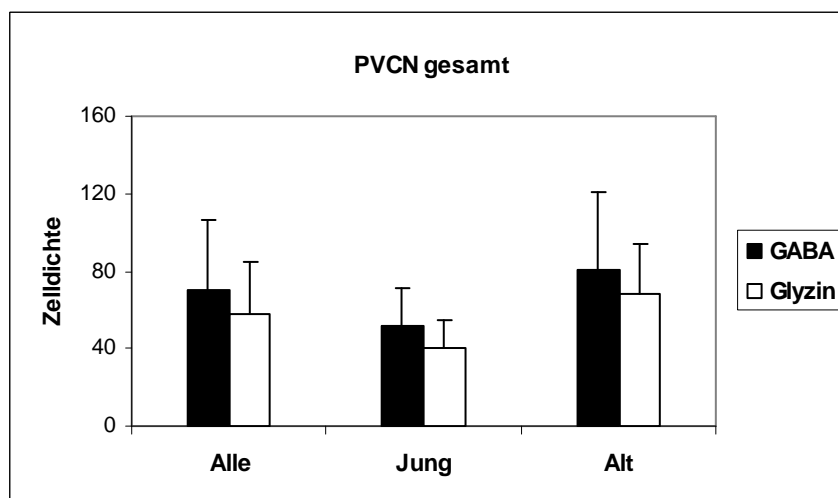
Tab. 42: Statistische Auswertung über Dichteunterschiede zwischen dem dorsalen und ventralen Bereichen des PVCN für GABA und Glyzin. Die Auswertung wurde für alle jungen, alle alten Tiere, Tiere der Gruppe Alt I und Alt II gemacht. Die Tabelle listet die p-Werte. Für die GABAFärbung liegen die Signifikanzwerte weit unter 0,05. Somit unterscheiden sich die Dichten im dorsalen und ventralen Bereich aller Altersgruppen in der GABAFärbung signifikant. Statistisch signifikante Werte sind fett markiert und unterstrichen; Werte, die auf einen Trend hinweisen, sind fett markiert.

3.2.4 Vergleiche der Dichten GABAerger mit glyzinerger Neurone im PVCN

Um die Frage zu klären, wie sich die Zelldichte GABA-exprimierender Neurone zu der glyzinexprimierender Neuronen verhält, wurden wieder nur diejenigen 14 Tiere zu Vergleichen herangezogen, bei denen beide Färbungen untersucht wurden. Im Diagramm 25 sind die Zelldichten der GABA- und Glyzinfärbung für den gesamten PVCN gegenübergestellt. Dieser Vergleich wurde einmal für alle Tiere und separat

für alle jungen und alle alten Tiere durchgeführt. Die einzelnen Werte zu Diagramm 25 sind in Tabelle 43 aufgeführt.

Es fällt auf, dass bei allen Tieren, sowie bei den jungen als auch den alten Tieren die Dichten GABAerger Neurone höher sind, als die der glyzinerger Neurone. Beim Dichtevergleich über alle Tiere hinweg zeigt der Wilcoxon-Test jedoch keinen signifikanten Unterschied ($p=0,177$; $N=14$). Ein signifikanter Dichteunterschied unabhängig vom Alter zwischen GABAergen und glyzinerger Neuronen für den gesamten PVCN besteht somit nicht. Auch für die Untergruppen der jungen und alten Tiere ergibt sich kein signifikanter Unterschied: $p(\text{Jung})=0,225$, $N=5$; $p(\text{alle Alten})=0,374$; $N=9$. Alle Ergebnisse des Wilcoxon-Tests, der für den gesamten Bereich des PVCN die Dichten der beiden Färbungen für alle Tiere, alle jungen und alle alten Tiere vergleicht, sind in Tabelle 44 aufgelistet. Eine weitere Aufteilung in Alt I bzw. Alt II erübrigt sich, weil dann die Stichprobengröße nur noch 5 bzw. 4 betragen würde.



Diagr. 25: Gegenüberstellung der Dichtemittelwerte mit Standardabweichungen von GABA und Glyzin für alle Tiere ($N = 14$), alle jungen ($N = 5$) und alle alten Tiere ($N = 9$) im gesamten PVCN. Die dazugehörigen Werte finden sich in Tabelle 43.

	PVCN gesamt	
	GABA	Glyzin
Alle	69,86+/- 36,52	58,16+/- 26,15
Jung	51,60+/- 20,12	39,95+/- 15,00
Alt	80,01+/- 40,50	68,27+/- 26,01

Tab. 43: Auflistung der Dichtemittelwerte und Standardabweichungen von GABAergen und glyzinerger Neuronen für alle Tiere, alle junge und alle alte Tiere im gesamten PVCN.

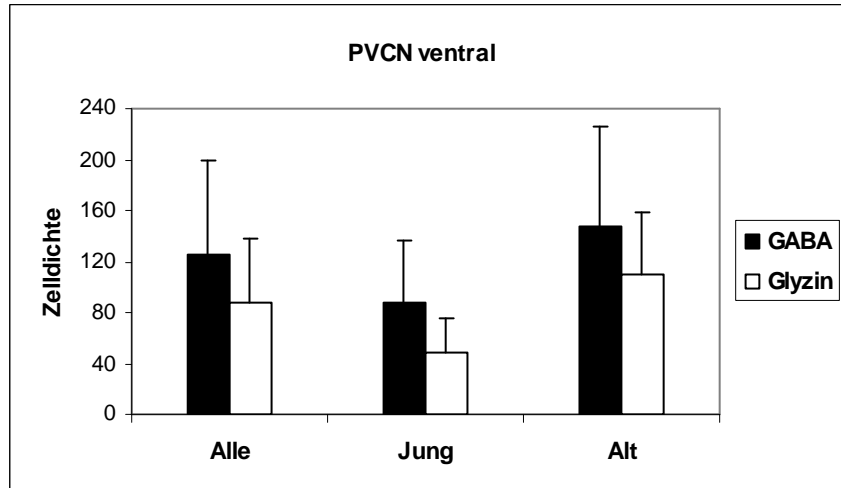
Wilcoxon-Test	
PVCN gesamt	GABA/Glyzin
Alle	0,177
Jung	0,225
Alt	0,374

Tab. 44: Statistische Auswertung über den Vergleich, ob sich die Dichte GABAerger und glyzinerger Neurone im gesamten PVCN unterscheiden. Die Auswertung wurde für alle Tiere, alle jungen und alle alten Tiere gemacht. Die Tabelle listet die p-Werte und zeigt, dass in keinem Vergleich die Werte unter 0,05 liegen. Somit gibt es im gesamten PVCN keinen statistisch signifikanten Unterschied in der Dichte GABAerger und glyzinerger Neurone.

Da die vorausgegangenen Wilcoxon-Tests zeigten (Tabelle 42), dass es zwischen dorsalem und ventralem PVCN signifikante Unterschiede in der Dichte GABAerger und glyzinerger Neurone gibt, werden der dorsale und ventrale Teil des PVCN separat auf mögliche Dichteunterschiede zwischen den beiden Färbungen hin untersucht.

Im Diagramm 26 sind die Zelldichten der GABA- und Glyzinfärbung für den ventralen Teil des PVCN gegenübergestellt. Es wurden alle Tiere in diesen Vergleich einbezogen und zusätzlich wurde dieser Vergleich separat für die jungen und alten Tiere durchgeführt. Die einzelnen Werte zu Diagramm 26 sind in Tabelle 45 aufgeführt. Auch hier sind die Dichten der GABAergen Neurone für alle Tiere, alle jungen und alle alten Tiere größer als die der glyzinerger Neurone. Der stärkste Unterschied ist bei den jungen Tieren feststellbar. Ein signifikanter Dichteunterschied ergibt sich mit dem Wilcoxon-Test weder beim Vergleich über alle, noch für die jungen oder alle alten Tiere: $p(\text{alle Tiere})=0,124$ ($N=14$), $p(\text{Jung})=0,138$ ($N=5$), $p(\text{alle Alt})=0,314$ ($N=9$). Alle Ergebnisse des Wilcoxon-Tests, der für den ventralen Bereich

des PVCN die Dichten der beiden Färbungen für alle Tiere, alle jungen und alle alten Tiere vergleicht, sind in Tabelle 46 aufgelistet.



Diagr. 26: Gegenüberstellung der Dichtemittelwerte mit Standardabweichungen von GABA und Glyzin für alle Tiere (N = 14), alle jungen (N = 5) und alle alten Tiere (N = 9) im ventralen PVCN. Die dazugehörigen Werte finden sich in Tabelle 45.

	PVCN I ventral	
	GABA	Glyzin
Alle	126,19+/- 73,16	87,87+/- 50,77
Jung	87,26+/- 49,91	49,00+/- 26,77
Alt	147,82+/- 77,32	109,73+/- 48,00

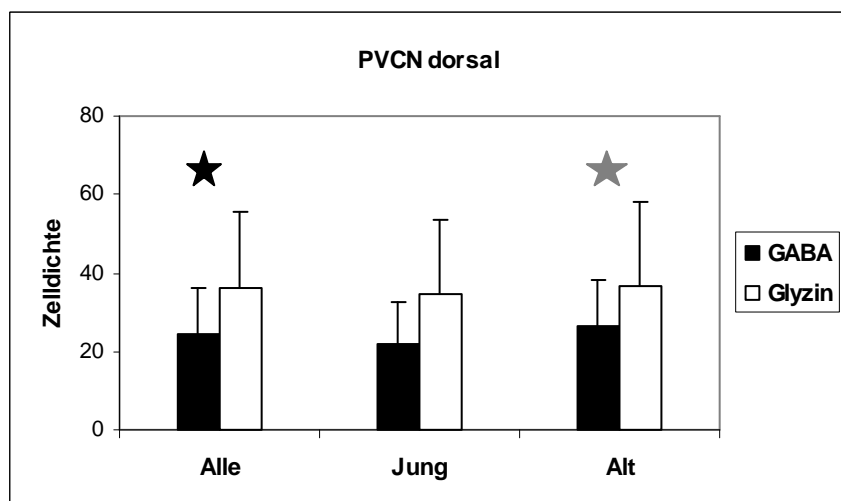
Tab. 45: Auflistung der Dichtemittelwerte und Standardabweichungen von GABAergen und glyzinerger Neuronen für alle Tiere, alle junge und alle alte Tiere im ventralen PVCN.

Wilcoxon-Test	
PVCN ventral	GABA/Glyzin
Alle	0,124
Jung	0,138
Alt	0,314

Tab. 46: Statistische Auswertung über den Vergleich, ob sich die Dichte GABAerger und glyzinerger Neurone im ventralen PVCN unterscheiden. Die Auswertung wurde für alle Tiere, alle jungen und alle alten Tiere gemacht. Die Tabelle listet die p-Werte und zeigt, dass in keinem Vergleich die Werte unter 0,05 liegen. Somit gibt es im ventralen PVCN keinen statistisch signifikanten Unterschied in der Dichte GABAerger und glyzinerger Neurone.

Im Diagramm 27 sind die Zelldichten der GABA- und Glyzinfärbung für den dorsalen Teil des PVCN gegenübergestellt. Es wurden alle Tiere separat alle jungen und alten Tiere einbezogen. Die einzelnen Werte zu Diagramm 27 sind in Tabelle 47 aufgeführt.

Im dorsalen Bereich des PVCN sind die Dichten der glyzinerger Neurone größer als die der GABAergen Neurone. Dies ist für alle Tiere, alle jungen und alle alten Tiere der Fall. Ein signifikanter Unterschied zwischen den Dichten GABAerger und glyzinerger Neurone ergibt sich beim Vergleich über alle Tiere. Der p-Wert für den Wilcoxon-Test liegt hier bei 0,048. Beim Vergleich der Dichten junger Tiere ergibt sich kein signifikantes Ergebnis. Die Dichten glyzinerger Neurone erreichen also in dieser Stichprobe von 5 jungen Tieren im dorsalen Bereich des PVCN keinen signifikanten Unterschied im Vergleich zu GABA. Beim Vergleich über alle alten Tiere (N=9) ergibt sich ein Signifikanzwert von $p=0,086$. Der Wert liegt zwar nicht unter dem Signifikanzniveau von 0,05, weist aber auf einen Trend hin, dass die Dichten glyzinerger Neurone aller alter Tiere im dorsalen Teil des PVCN signifikant größer sind als die Dichten der GABAergen Neurone. Alle Ergebnisse des Wilcoxon-Tests, der für den dorsalen Bereich des PVCN die Dichten der beiden Färbungen für alle Tiere, alle jungen und alle alten Tiere vergleicht, sind in Tabelle 48 aufgelistet.



Diagr. 27: Gegenüberstellung der Dichtemittelwerte mit Standardabweichungen von GABA und Glyzin für alle Tiere (N = 14), alle jungen (N = 5) und alle alten Tiere (N = 9) im dorsalen PVCN. Die dazugehörigen Werte finden sich in Tabelle 47. (Schwarzer Stern= signifikanter Dichteunterschied, $p < 0.05$; grauer Stern= Dichteunterschied mit tendenzieller Wahrscheinlichkeit, $p < 0.1$)

	PVCN r dorsal	
	GABA	Glyzin
Alle	24,68+/- 11,41	35,93+/- 19,79
Jung	21,70+/- 10,71	34,50+/- 18,76
Alt	26,33+/- 12,07	36,72+/- 21,41

Tab. 47: Auflistung der Dichtemittelwerte und Standardabweichungen von GABAergen und glyzinerger Neuronen für alle Tiere, alle junge und alle alte Tiere im dorsalen PVCN.

Wilcoxon-Test	
PVCN dorsal	GABA/Glyzin
Alle	<u>0,048</u>
Jung	0,345
Alt	0,086

Tab. 48: Statistische Auswertung über den Vergleich, ob sich die Dichte GABAerger und glyzinerger Neurone im dorsalen PVCN unterscheiden. Die Auswertung wurde für alle Tiere, alle jungen und alle alten Tiere gemacht. Die Tabelle listet die p-Werte. Beim Vergleich über alle Tiere zeigt sich ein Wert unter 0,05 (fett/unterstrichen), somit unterscheiden sich die Dichten GABAerger und glyzinerger Neurone im dorsalen Bereich für alle Tiere signifikant. Werte, die auf einen Trend hinweisen, sind fett markiert.

3.3 Zusammenfassung

Für den PVCN kann festgestellt werden, dass die Anzahl GABAerger und glyzinerger Neurone einen Trend aufweisen, mit der Querschnittsfläche zu korrelieren (Diagramm 15).

Es gibt keine Hinweise dafür, dass die Anzahl inhibitorischer Neurone bei alten Tieren im PVCN abnimmt. Die Daten weisen sowohl bei GABA als auch bei Glyzin eher auf eine Zunahme inhibitorischer Neurone als auf einen Verlust im PVCN hin. Dies ist besonders für die glyzinerger Neurone zutreffend (Diagramm 16, 17) und in dieser Stichprobe auch statistisch signifikant. Die separaten Vergleiche von jungen Tieren mit den Gruppen Alt I und Alt II wurden detailliert untersucht. Für beide Gruppen zeigt sich eine Zellzahlzunahme, wobei Alt I bei beiden Transmittern im Mittel eine etwas höhere Zunahme zeigt als Alt II (Diagramm 18). Ein signifikanter

Unterschied konnte nur für Glyzin beim Vergleich der jungen Tiere mit Alt I gefunden werden (Tabelle 29).

Obwohl die Anzahl GABAerger Neurone im Mittel höher als die der glyzinerger Neurone war, ergab sich in der vorliegenden Stichprobe bei der statistischen Analyse kein signifikanter Unterschied (Diagramm 19).

Im gesamten PVCN zeigte sich im Mittel eine Zunahme der Dichte GABAerger und glyzinerger Neurone bei alten Tieren (Diagramm 20, 21). Allerdings ergab die statistische Analyse nur für den Vergleich der Gruppen junger und alter Tiere bei Glyzin eine signifikante Zunahme (Diagramm 21). Die separaten Vergleiche von jungen Tieren mit den Gruppen Alt I und Alt II wurden ebenfalls detailliert untersucht. Ein signifikanter Einfluss des Alters zeigt sich jedoch nur für GABA beim Vergleich Jung mit Alt I (Diagramm 22).

Eine getrennte Analyse von dorsalem (Oktopuszellbereich) und ventralem PVCN („multipolar cells“) ergab für GABA und Glyzin unterschiedliche altersbedingte Veränderungen (Diagramm 23 und 24):

Im dorsalen PVCN ergeben die Befunde Hinweise für eine Zunahme der Dichte GABAerger Neurone (Diagramm 23A). Statistische Analysen bestätigen hier auch einen signifikanten Einfluss des Alters auf die Dichte GABAerger Neurone im Oktopuszellbereich. Dagegen ergeben sich im dorsalen PVCN keine Hinweise auf eine Dichteänderung glyzinerger Neurone beim Vergleich junger und alter Tiere (Tabellen 38, 39). Die Dichten glyzinerger Neurone junger und alter Tiere unterscheiden sich im dorsalen PVCN kaum (Diagramm 23B).

Ebenso wurden im dorsalen PVCN die jungen Tiere separat mit den beiden Gruppen Alt I und Alt II (Diagramm 24) untersucht. Es zeigt sich nur für die GABAergen Neurone ein signifikanter Einfluß des Alters. Vor allem beim Vergleich junger Tiere mit der Gruppe Alt II nimmt die Dichte GABAerger Neurone signifikant zu. Für Glyzin ergaben sich keine signifikanten Unterschiede (Tabelle 38).

Im ventralen PVCN ist im Mittel sowohl die Dichte GABAerger als auch glyzinerger Neurone bei alten Tieren höher als bei jungen (Diagramm 23). Für Glyzin ist diese Zunahme beim Gruppenvergleich zwischen alten und jungen Tieren signifikant (Tabelle 39) und auch die Rangkorrelation ergibt zumindest einen Trend für die Zunahme der Dichte glyzinerger Neurone mit dem Alter (Tabelle 38). Bei separaten

Vergleichen von jungen Tieren mit den Gruppen Alt I und Alt II (Diagramm 24), nehmen für beide Transmitter die Dichten in beiden Gruppen alter Tiere (Alt I und Alt II) im Vergleich zu jungen Tieren zu. Für Glyzin ist dies Zunahme signifikant (Tabelle 38, 40, 41). Für GABAerge Neurone wurden ebenfalls separate Vergleiche von jungen Tieren mit den Gruppen Alt I und Alt II detailliert untersucht, signifikante Ergebnisse ergaben sich nicht.

Zwischen den dorsalen und ventralen Bereichen des PVCN bestehen signifikante Unterschiede in der Dichte inhibitorischer Neurone (Diagramm 23, Tabelle 42). Unabhängig vom Alter gibt es im ventralen Teil („multipolar cells“) eine signifikant höhere Dichten GABAerger und glyzinerger Neurone als im dorsalen Bereich (Oktopuszellbereich).

Im gesamten (Diagramm 25) und im ventralen PVCN (Diagramm 26) ist die Dichte GABAerger Neurone für alle Altersgruppen stets größer als die Dichten glyzinerger Neurone. Allerdings ergab die statistische Analyse, dass diese Unterschiede nicht signifikant waren (Tabelle 44, 46). Im dorsalen PVCN (Diagramm 27) sind dagegen die Dichten glyzinerger Neurone höher als die Dichten GABAerger Neurone. Ein signifikanter Unterschied bestand nur wenn alle Tiere in die Analyse einbezogen wurden (Tabelle 48).

Ein Zusammenhang zwischen der Abnahme der AVCN- Querschnittsfläche bei den Tieren der Gruppe Alt II und einer Änderung von Zellzahl bzw. Dichte GABAerger und glyzinerger Neurone im PVCN konnte nicht festgestellt werden.

4. Altersbedingte Veränderung im DCN

4.1 Untersuchung der Anzahl GABAerger und glyzinerger Neurone im DCN

Für die Untersuchung der Anzahl GABAerger und glyzinerger Neurone im DCN wurden die gleichen 29 Schnittserien verwendet, die für die Untersuchung des AVCN und PVCN herangezogen wurden.

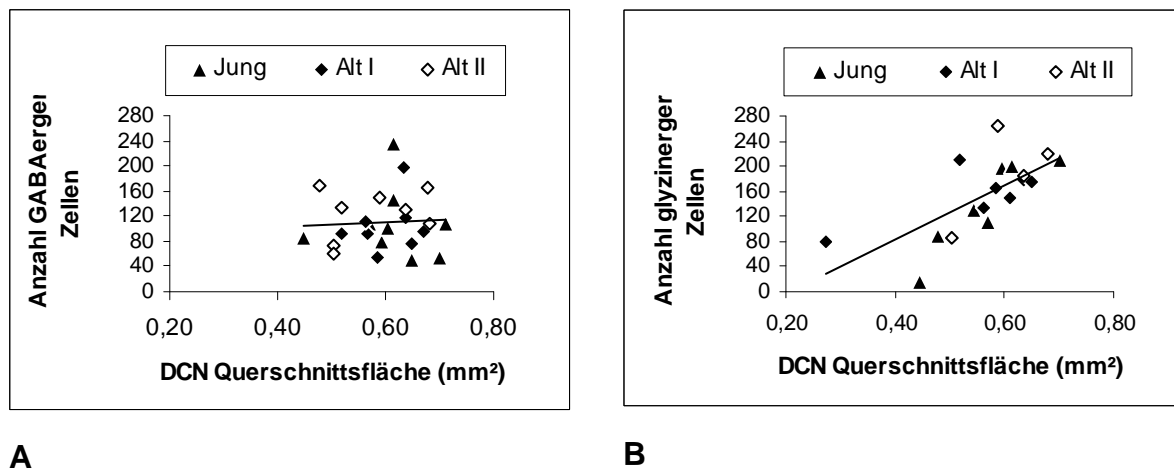
Die Untersuchungen des DCN und die verwendeten statistischen Tests werden identisch zu den Untersuchungen des AVCN und PVCN im Abschnitt 2 bzw. 3 des Ergebnisteils durchgeführt.

Bevor Untersuchungen eines altersabhängigen Effekts auf die Anzahl GABAerger und glyzinerger Neuronen im DCN gestartet werden, soll festgestellt werden, ob die Anzahl der Neurone beider Färbungen mit den Querschnittsflächen korrelieren. Zu diesem Zweck wurde den Querschnittsflächen jedes Tieres die entsprechende Anzahl an Neuronen gegenübergestellt. Diagramm 28A enthält die Werte der 25 Tiere mit der GABAFärbung und Diagramm 28B die Werte der 18 Tiere mit der Glyzinfärbung. Die jungen Tiere und die Tiere der Gruppen Alt I und Alt II sind mit entsprechenden Symbolen gekennzeichnet. Regressionslinien über alle Tiere sind zur besseren Beurteilung der Daten eingezeichnet. Die Werte sind den Tabellen 1 und 49 entnommen.

Im Diagramm 28A kann kein systematischer Zusammenhang zwischen Querschnittsfläche und Anzahl GABAerger Neurone erkannt werden. Dagegen fällt im Diagramm 28B eine deutliche Korrelation zwischen Zellzahl (Anzahl an glyzinerger Neuronen) und Fläche auf. Es besteht ein systematischer Zusammenhang zwischen kleinen Flächen und geringer Zellzahl (Anzahl glyzinerger Neurone) bzw. großen Flächen und hoher Zellzahl. Die starke Zunahme der Anzahl glyzinerger Zellen pro Querschnittsfläche deutet darauf hin, dass eine Verdopplung der Fläche mit einer überproportionalen Zunahme der Anzahl glyzinerger Zellen assoziiert ist.

Beim Vergleich der Querschnittsflächen mit der Anzahl an Neuronen ergibt sich bei der Korrelation nach Spearman für die GABAFärbung kein signifikanter Wert

($p=0,859$, $r^2=0,0014$, $N=25$). Für die Glyzinfärbung bestätigt sich die Vermutung, dass die Anzahl der Neurone mit der Fläche korrelieren. Der Signifikanzwert liegt hier bei $p=0,001$ ($r^2=0,4997$, $N=18$). Dieser Zusammenhang ist für GABAerge Neurone nicht der Fall.



Diagr. 28: Darstellung der Anzahl GABAerger (A) und glyzinerger (B) Neurone in Abhängigkeit von der Querschnittsfläche. Die Altersgruppen Jung, Alt I und Alt II sind gekennzeichnet. Zur besseren Beurteilung sind die linearen Regressionslinien eingezeichnet. Die Werte sind den Tabellen 1 und 49 entnommen.

Zur Untersuchung einer altersabhängigen Änderung der Anzahl an GABAerger und glyzinerger Neurone sind in den Diagrammen 29A und 29B die Anzahl der Neurone beider Färbungen als Funktion des Alters für den gesamten DCN aufgetragen. Dabei wurden die beiden Gruppen Alt I und Alt II durch unterschiedliche Symbole gekennzeichnet. Ebenso sind die Mittelwerte der einzelnen Gruppen durch entsprechende Linien verbunden. Die einzelnen Werte zu Alter und Zellzahl finden sich für GABA in Tabelle 49A und für Glyzin in Tabelle 49B.

Im Diagramm 29A fällt für GABA keine Änderung der Anzahl an Neuronen zwischen jungen und alten Tieren auf. Die Mittelwertslinie, die den Mittelwert der jungen mit dem der alten Tiere verbindet (durchgezogene Linie), bleibt annähernd horizontal. Auch die Werte der beiden Gruppen Alt I und Alt II ändern sich im Vergleich zu denen der jungen Tiere kaum. Die Mittelwertslinien Jung/Alt I bzw. Jung/Alt II weichen kaum von der Horizontalen ab. Eine altersbedingte Änderung, insbesondere ein altersbedingter Verlust GABAerger Neurone ist aus dieser Darstellung nicht zu

erkennen. Auch für die beiden Gruppen Alt I und Alt II ist kein Einfluß des Alters auf die Anzahl GABAerger Neurone zu erkennen. Überprüft man, ob die Zellzahlen GABAerger Neurone unter Berücksichtigung der jungen und der alten Tiere bzw. der Gruppe Alt I oder Alt II signifikant vom Alter abhängen, bestätigt die Spearmann Rang Korrelation obige Vermutung. Die Signifikanzwerte liegen alle weit über 0,05 (vergleiche Tabelle 50), es gibt keine signifikanten Änderungen der Anzahl GABAerger Neurone bei alten Tieren.

Vergleicht man Diagramm 29B, scheint es auf jeden Fall keinen altersbedingten Verlust glyzinerger Neurone im DCN zu geben. Wenn überhaupt deuten die geringfügigen Abweichungen der Linien, welche die Gruppenmittelwerte verbinden, auf eine geringfügige Zunahme bei alten Tieren hin. Bei Berechnungen nach der Spearman Rang Korrelation, die den Einfluss des Alters auf die Anzahl glyzinerger Neurone von Jung unter Einbeziehung aller alten Tiere bestimmt, ergibt sich kein signifikanter Wert ($p=0,103$). Die Anzahl glyzinerger Neurone der Gruppe Alt II (weiße Rauten) scheint im Diagramm 29B innerhalb der alten Tiere noch am stärksten zuzunehmen. Aber auch bei Berechnungen unter Einbeziehung der jungen und entweder der Gruppe Alt I oder Alt II ergeben sich keine signifikanten Werte (was bei der stark verringerten Stichproben $N(\text{Alt I})=7$ und $N(\text{Alt II})=4$ für Glyzin erwartet werden kann). Die Zellzahlen glyzinerger Neurone der beiden Altersgruppen korrelieren somit nicht mit dem Alter. Sämtliche Ergebnisse der Rangkorrelation zur Untersuchung eines alterabhängigen Effektes sind für beide Färbungen in Tabelle 50 aufgelistet.

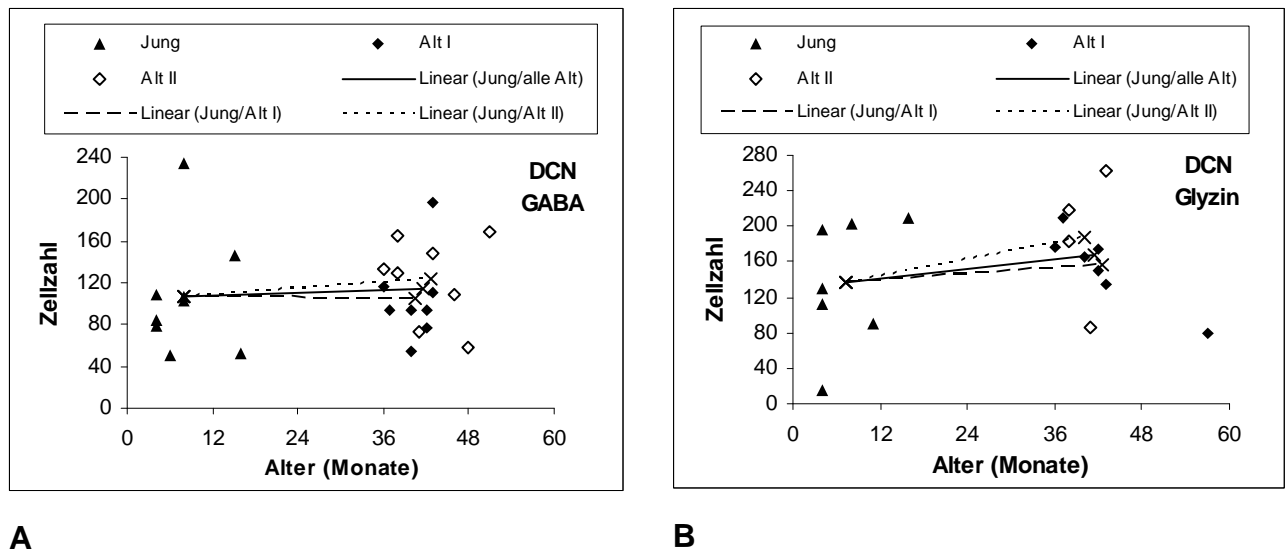
Tier (Nummer)	Alter (Monate)	DCN	Gruppe
697	4	108	1
713	4	85	1
727	4	78	1
666	6	51	1
710	8	107	1
711	8	103	1
838	8	234	1
705	15	147	1
768	16	53	1
702	36	133	3
798	36	117	2
764	37	93	2
805	38	130	3
808	38	165	3
759	40	93	2
793	40	54	2
819	41	73	3
762	42	76	2
815	42	94	2
785	43	197	2
786	43	110	2
822	43	149	3
795	46	108	3
827	48	59	3
839	51	168	3

A

Tier (Nummer)	Alter (Monate)	DCN	Gruppe
697	4	112	1
713	4	15	1
718	4	131	1
727	4	196	1
838	8	202	1
760	11	90	1
768	16	209	1
798	36	177	2
764	37	210	2
805	38	183	3
808	38	219	3
793	40	165	2
819	41	85	3
762	42	175	2
763	42	151	2
786	43	135	2
822	43	263	3
782	57	80	2

B**Tab. 49:** Auflistung der Zellzahlen im DCN entsprechend dem Alter für GABA (A) und Glyzin (B).

Gruppe 1: junge Tiere; Gruppe 2: Alt I; Gruppe 3: Alt II.



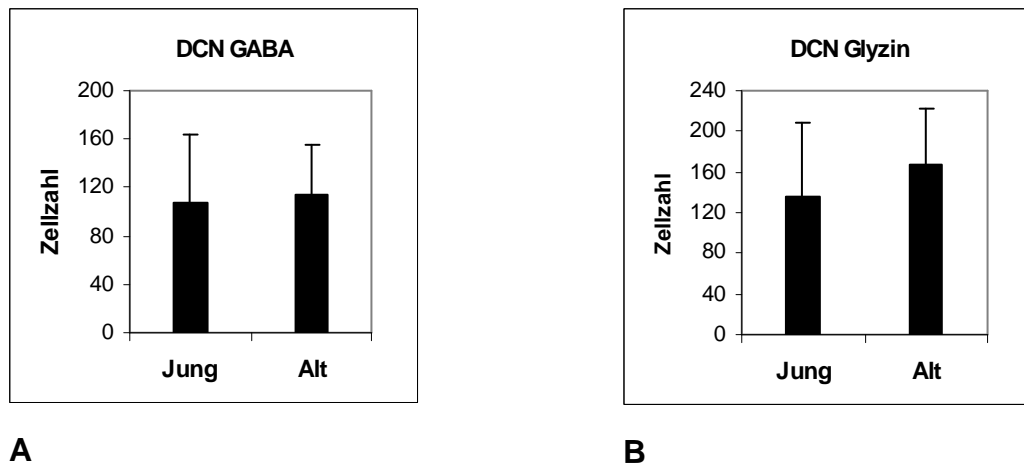
Diagr. 29: Darstellung der mittleren Zellzahlen des DCN für GABA (A) und für Glyzin (B), entsprechend dem Alter. Die dazugehörigen Werte finden sich in Tabelle 49. Die Linien verbinden die Mittelwerte der einzelnen Gruppen (vergleiche dazu die Legende).

Spearman Rang Korrelation

	GABA	Glyzin
Jung/Alt	0,403	0,103
Jung/Alt I	0,572	0,880
Jung/Alt II	0,285	0,204

Tab. 50: Statistische Auswertung inwieweit das Alter mit der Anzahl GABAerger bzw. glyzinerger Neurone im DCN korreliert. Die Tabelle listet die p-Werte und zeigt, dass in keiner dieser Korrelationen eine Wahrscheinlichkeit unter 0,05 erreicht wurde und somit kein signifikanter Effekt des Alters auf die Anzahl der GABAergen und glyzinerger Zellen feststellbar war.

In den Säulen-Diagrammen 30A und 30B sind die Mittelwerte und Standardabweichungen der Anzahl GABAerger bzw. glyzinerger Neurone junger und aller alten Tiere gegenübergestellt. Hier wird deutlich, dass im Mittel die Zellzahlen GABAexprimierender Neurone im Alter um 6% und die Zellzahlen glyzinerger Neurone um 19% zunehmen. Die Analyse mit dem Mann-Whitney-U Test zeigt aber genau wie die Spearman Rang Korrelation (vergleiche Tabelle 50), dass diese Unterschiede statistisch nicht signifikant sind (vergleiche Tabelle 51).



Diagr. 30: Gegenüberstellung der Mittelwerte mit Standardabweichungen der Anzahl GABAerger (A) und glyzinerger (B) Neurone jungen und aller alten Tiere im DCN.

Mann-Withney-U Test

	GABA	Glyzin
Jung/Alt	0,419	0,479

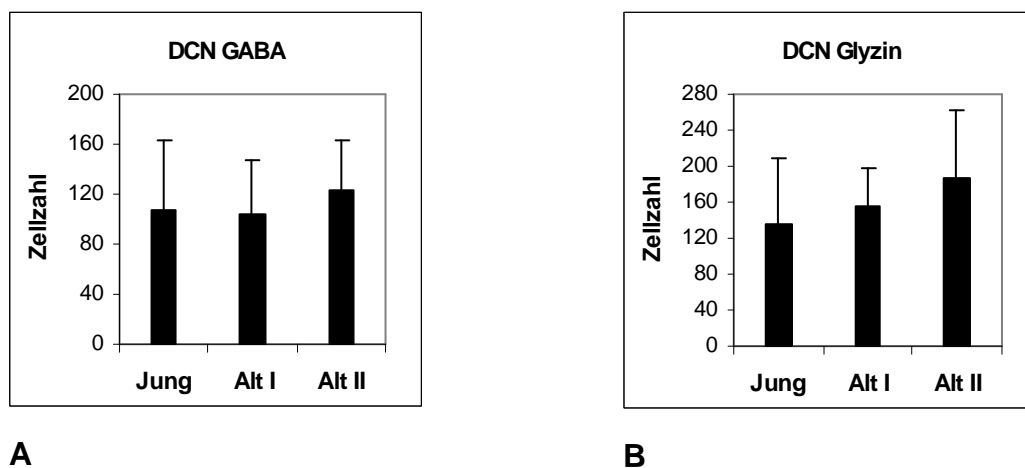
Tab. 51: Statistische Auswertung des Zellzahlenvergleichs GABAerger bzw. glyzinerger Neurone im DCN zwischen jungen und allen alten Tieren. Die Tabelle listet die p-Werte und zeigt, dass in keinem dieser Vergleiche eine Wahrscheinlichkeit unter 0,05 erreicht wurde und somit kein signifikanter Unterschied in der Anzahl GABAerger bzw. glyzinerger Zellen zwischen den jungen und alten Tieren feststellbar war.

In den Säulen-Diagrammen 31A und 31B sind die Mittelwerte und Standardabweichungen der jungen Tiere, den Mittelwerten beider Gruppen Alt I und Alt II gegenübergestellt.

In beiden Diagrammen zeigt sich, dass die Zunahme der Anzahl GABAerger bzw. glyzinerger Neurone alter Tiere hauptsächlich bei Alt II, also den Tieren mit einer reduzierten Querschnittsfläche des AVCN wiederzufinden ist. Die Zellzahlen GABAerger Neurone nehmen hier um 13% und die Zellzahlen glyzinerger Neurone um 28% zu. Die Zellzahlen der Gruppe Alt I nimmt in der GABAFärbung sogar um 3% ab, in der Glyzinfärbung um 13% zu. Der Kruskal-Wallis Test zeigt keinen signifikanten Unterschied zwischen den drei Gruppen, weder für die GABA-Färbung ($p=0,417$) noch für die Glyzinfärbung ($p=0,430$). Einen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den drei Gruppen Jung, Alt I und Alt II gibt es also für beide Färbungen nicht. Weitere paarweise Vergleiche der Mittelwerte zwischen Jung und

Alt I, Jung und Alt II oder auch Alt I und Alt II sind somit nicht mehr zulässig. Der Kruskal-Wallis Test ist in Tabelle 52 aufgeführt.

Zusammenfassend zeigen beide Tests, die Spearman Rang Korrelation und der Kruskal-Wallis Test, dass das Alter keinen statistisch signifikanten Einfluss auf die Anzahl GABAerger und glyzinerger Neurone im DCN hat (Tabelle 50, 51 und 52). Insbesondere ergeben sich keine Hinweise auf einen möglichen Verlust inhibitorischer Neurone bei alten Tieren. Die Ergebnisse zeigen sogar eine geringe Zunahme insbesondere der glyzinerger Zellen im DCN alter Tiere, auch wenn dies in der vorliegenden Stichprobe nicht signifikant ist.



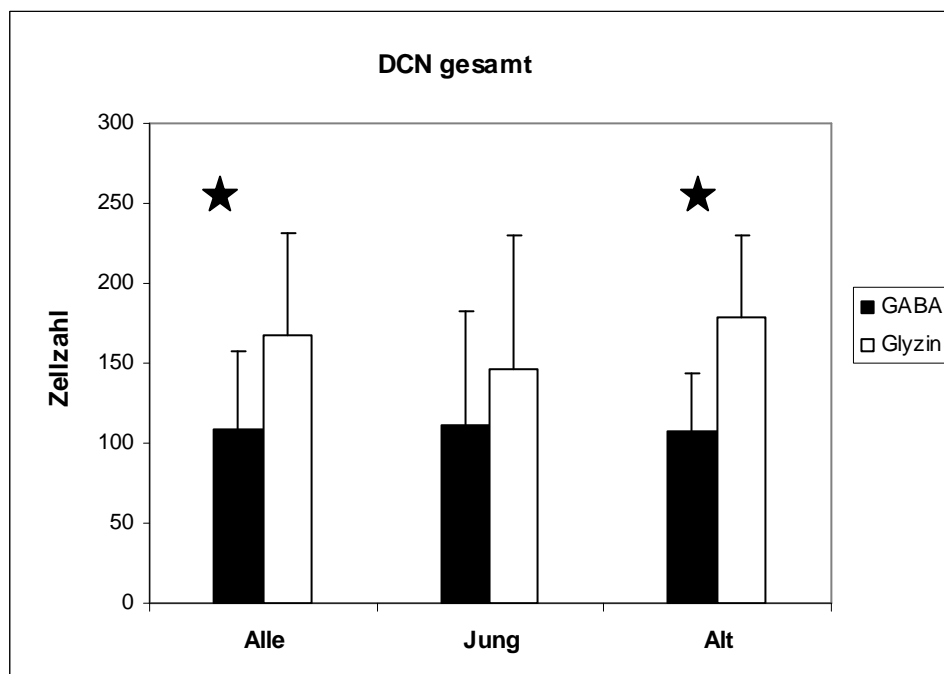
Diagr. 31: Gegenüberstellung der Mittelwerte mit Standardabweichungen der Zellzahlen GABAerger (A) und glyzinerger (B) Neurone der Gruppe der jungen Tiere, der Gruppe Alt I und der Gruppe Alt II im DCN.

Kruskal-Wallis Test

	GABA	Glyzin
Jung / Alt I / Alt II	0,417	0,430

Tab. 52: Statistische Auswertung des Zellzahlenvergleichs GABAerger bzw. glyzinerger Neurone im DCN zwischen jungen Tieren, Tieren der Gruppe Alt I und Alt II. Die Tabelle listete die p-Werte und zeigt, dass in keinem dieser Vergleiche eine Wahrscheinlichkeit unter 0,05 erreicht wurde und somit kein signifikanter Unterschied in der Anzahl GABAerger bzw. glyzinerger Zellen innerhalb der drei Gruppen Jung, Alt I und Alt II feststellbar war. Weiterführende Tests zum Vergleich der einzelnen Gruppen untereinander sind somit nicht mehr zulässig.

Um die Frage zu klären, wie sich die Anzahl GABAerger zu der Anzahl glyzinerger Neurone im DCN verhält, wurden im Diagramm 32 die Mittelwerte und Standardabweichungen GABAerger und glyzinerger Neuronenzahlen derjenigen 14 Tiere gegenübergestellt, bei denen beide Färbungen untersucht wurden. Die Werte dazu finden sich in Tabelle 54. Der Vergleich wurde für alle Tiere und zusätzlich separat für die jungen und alten Tiere durchgeführt. Hier fällt deutlich auf, dass es im DCN für alle Tiere mehr glyzinerge als GABAerge Neurone gibt. Der Wilcoxon-Test zeigt beim Vergleich über alle Tiere hinweg einen signifikanten Unterschied ($p=0,011$). Führt man diese Analyse separat für die jungen bzw. alten Tiere durch, zeigt sich bei den jungen Tieren kein signifikanter Unterschied. Dies ist wohl auf die geringe Stichprobenmenge von $N=5$ zurückzuführen. Für die alten Tiere ergibt sich ein Signifikanzwert von $p=0,008$. Somit gibt es im gesamten DCN für alle Tiere und speziell für alle alten Tiere eine signifikant höhere Anzahl glyzinerger Neurone als GABAerge (vergleiche Tabelle 53). Eine weitere Aufteilung in Alt I bzw. Alt II erübrigt sich, weil dann die Stichprobengröße mit $N=5$ für Alt I bzw. $N=4$ für Alt II betragen würde.



Diagr. 32: Gegenüberstellung der Zellzahlmittelwerte mit Standardabweichungen von GABA und Glyzin für alle Tiere ($N = 14$), alle jungen ($N = 5$) und alle alten Tiere ($N = 9$) im gesamten DCN. Die dazugehörigen Werte finden sich in Tabelle 54. (schwarzer Stern= signifikanter Dichteunterschied, $p < 0.05$)

Wilcoxon-Test

Gesamt	GABA/Glyzin
Alle	<u>0,011</u>
Jung	0,500
Alt	<u>0,008</u>

Tab. 53: Statistische Auswertung über den Vergleich, ob sich die Anzahl GABAerger und glyzinerger Neurone im DCN unterscheiden. Die Tabelle listet die p-Werte. Statistisch signifikante Werte sind fett markiert und unterstrichen.

	GABA	Glyzin
Alle	108,93+/- 49,00	167,57+/- 63,18
Jung	111,60+/- 71,18	146,80+/- 83,54
Alt	107,44+/- 36,89	179,11+/- 50,77

Tab. 54: Auflistung der Zellzahlmittelwerte und Standardabweichungen von GABAergen und glyzinerger Neuronen für alle Tiere, alle junge und alle alte Tiere für den gesamten DCN.

4.2 Untersuchung der Zelldichte GABAerger und glyzinerger Neurone im DCN

Bei der Untersuchung der Zelldichten im DCN gibt es aufgrund von funktionellen und tonotopen Gesichtspunkten mehrere unterschiedliche Bereiche im gesamten DCN, die im Einzelnen auf altersbedingte Veränderungen untersucht werden müssen. Im Abschnitt „Material und Methoden“ unter Kapitel 2.3 wurde die Einteilung bereits beschrieben. Bei der statistischen Auswertung wurde wie folgt vorgegangen:

Zuerst wurde der DCN in seiner Gesamtheit auf signifikante Dichteunterschiede zwischen den Altersgruppen untersucht. Danach folgte die Untersuchung jeweils für die molekulare und die tiefe Schicht des DCN. Anschließend wurde die Berechnung für die drei tonotopen Bereiche, den ventralen (tieffrequenten), mittigen (mittelfrequenten) und dorsalen (hochfrequenten) Bereich durchgeführt. Zum Schluß erfolgte noch die Aufteilung der molekularen und tiefen Schicht in die drei frequenzspezifischen Bereiche, so dass sich letztlich 6 Teilbereiche, der molekulare

ventrale, molekulare mittige, molekulare dorsale, tiefe ventrale, tiefe mittige und tiefe dorsale Bereich ergaben.

Die Unterteilung in molekulare und tiefe Schicht wurde hier ähnlich wie im PVCN aus funktionellen Gesichtspunkten vorgenommen: Zum einen befinden sich die zwei Haupt- „Output Neuronen“, die Informationen aus der Cochlea direkt weiter zum Inferior colliculus leiten, jeweils in diesen beiden Schichten. Die „fusiform cells“ (=Pyramidal Zellen) liegen in der so genannten fusiformen Schicht, die hier aus praktischen Gründen zusammen mit der Molekularschicht betrachtet wird. Als zweite Output-Neuronen sind die „giant cells“ ausschließlich in der tiefen Schicht anzufinden. Zum anderen besteht der DCN aus einem Zellgeflecht, dessen Aufgabe es ist, hemmend und somit regulierend auf die Output-Neurone zu wirken. Als inhibitorisch wirkende Neurone gibt es in der äußeren (molekularen) Schicht des DCN die GABA- und glyzinergeren „cartwheel cells“ und die ausschließlich GABAergen kleineren „stellate cells“. In der tiefen Schicht gibt es die „tuberculoventral cells“, die Glyzin und/oder GABA exprimieren. Deshalb ist es wichtig, auch diese beiden Schichten des DCN separat auf altersbedingte Veränderungen zu untersuchen.

Die Untersuchung auf altersbedingte Dichteänderungen erfolgte wie bei den beiden anderen CN-Bereichen AVCN und PVCN zuerst zwischen den jungen Tieren (≤ 16 Monate) und allen alten (> 16 Monaten). Danach folgte die Berechnung zwischen jungen Gerbils und der Gruppe Alt I bzw. Alt II, jeweils für die GABA- und Glyzinfärbung. Auch hier wurden die gleichen Testverfahren angewendet, wie bei der Untersuchung von AVCN und PVCN.

4.2.1 Zelldichte im gesamten DCN

Die Zelldichten als Funktion des Alters für den DCN sind in den Diagrammen 33A für die GABA-Färbung und in 33B für die Glyzinfärbung dargestellt. Die beiden Altersgruppen Alt I und Alt II sind wieder durch unterschiedliche Symbole gekennzeichnet und die Mittelwerte der einzelnen Gruppen durch Linien verbunden. Die einzelnen Werte zu Alter und Dichte finden sich für GABA in Tabelle 55A und für Glyzin in 55B.

Vergleicht man in den Diagrammen 33A und 33B die jungen Tiere mit allen alten, so ergeben sich keine Hinweise für eine Abnahme der Dichte inhibitorischer Neurone. Die durchgezogenen Linien, die die Mittelwerte junger und alter Tiere verbinden, verlaufen für die GABA Färbung annähernd horizontal, während diese für Glyzin leicht ansteigt und eher auf eine Zunahme der Dichte glyzinerger Neurone hindeutet. Bei der statistischen Untersuchung des Alterseffekts unter Einbeziehung aller alten Tiere mittels der Spearman Rang Korrelation ergibt sich, dass die Änderungen in Diagramm 33 weder für die GABA- noch für die Glyzinfärbung signifikant sind. Beide Signifikanzwerte liegen weit über 0,05; vergleiche dazu Tabelle 56.

Für die Dichtewerte von Alt I und Alt II kann bei beiden Färbungen kein größerer systematischer Unterschied festgestellt werden. Die Mittelwertslinien, die jeweils den Dichtemittelwert aller jungen mit dem aller Alt I (gestrichelte Linie) bzw. aller Alt II (gepunktete Linie) verbinden, ist keine starke Abweichung von der Mittelwertslinie Jung/alle Alt (durchgezogene Linie) erkennbar. Bei Berechnungen nach der Spearman Rang Korrelation, die den Einfluss des Alters auf die Dichten GABAerger und glyzinerger Neurone von Jung unter Einbeziehung von Alt I bzw. Alt II bestimmen, ergeben sich keine signifikanten Werte (was bei der geringen Stichprobe von $N(\text{Alt I})=8$ und $N(\text{Alt II})=8$ für GABA und $N(\text{Alt I})=7$ und $N(\text{Alt II})=4$ für Glyzin erwartet werden kann). Die Dichten der jungen und entweder der Gruppe Alt I oder Alt II korrelieren nicht mit dem Alter, die p-Werte liegen weit über dem Signifikanzniveau von 0,05. Sämtliche Ergebnisse der Rangkorrelation zur Untersuchung eines alterabhängigen Effektes sind für beide Färbungen in Tabelle 56 aufgelistet.

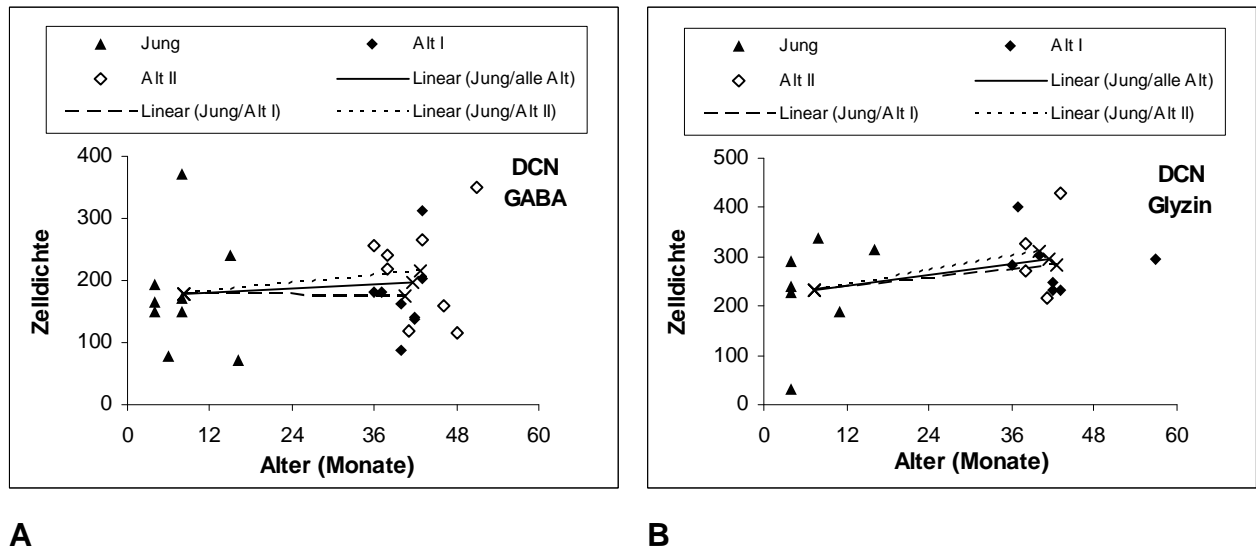
Tier (Nummer)	Alter (Monate)	DCN	Gruppe
697	4	166,46	1
713	4	192,23	1
727	4	151,07	1
666	6	78,52	1
710	8	150,48	1
711	8	171,01	1
838	8	370,63	1
705	15	239,33	1
768	16	72,14	1
702	36	256,69	3
798	36	180,33	2
764	37	180,48	2
805	38	218,72	3
808	38	240,87	3
759	40	164,05	2
793	40	86,45	2
819	41	118,06	3
762	42	137,95	2
815	42	139,84	2
785	43	311,37	2
786	43	201,91	2
822	43	265,58	3
795	46	158,10	3
827	48	117,14	3
839	51	351,20	3

A

Tier (Nummer)	Alter (Monate)	DCN	Gruppe
697	4	227,48	1
713	4	33,23	1
718	4	240,30	1
727	4	292,31	1
838	8	339,53	1
760	11	188,32	1
768	16	314,58	1
798	36	282,96	2
764	37	403,37	2
805	38	270,41	3
808	38	325,32	3
793	40	303,08	2
819	41	217,24	3
762	42	233,83	2
763	42	247,04	2
786	43	231,55	2
822	43	427,67	3
782	57	294,06	2

B

Tab. 55: Auflistung der Zelldichten (pro mm²) GABAerger (A) und glyzinerger (B) Neurone entsprechend dem Alter für den gesamten Teil des DCN. Gruppe 1: junge Tiere; Gruppe 2: Alt I; Gruppe 3: Alt II.



Diagr. 33: Darstellung der mittlere Zelldichten (pro mm²) des DCN für GABA (A) und Glyzin (B), entsprechend dem Alter. Die dazugehörigen Werte finden sich in Tabelle 55. Die Linien verbinden die Mittelwerte der einzelnen Gruppen (vergleiche dazu die Legende).

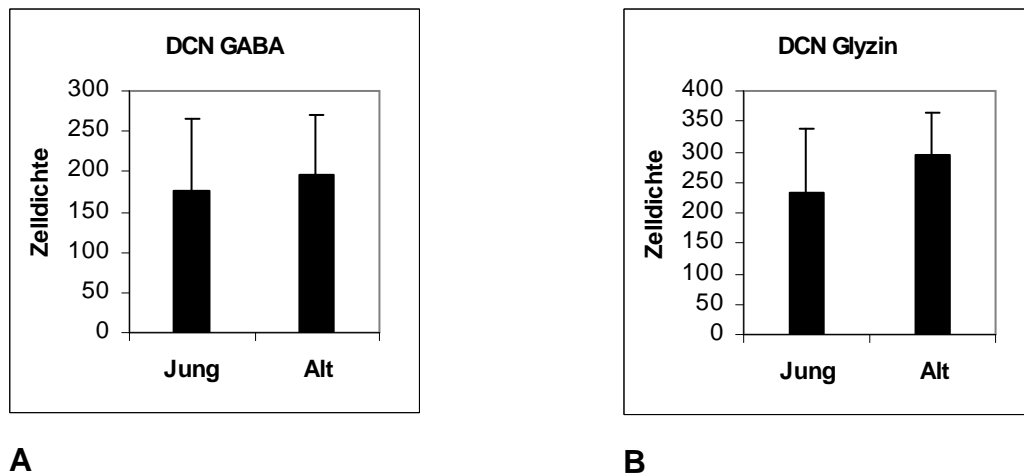
Spearman Rang Korrelation

	GABA	Glyzin
Jung/Alt	0,648	0,401
Jung/Alt I	0,847	0,435
Jung/Alt II	0,490	0,222

Tab. 56: Statistische Auswertung inwieweit das Alter mit der Dichte GABAerger- bzw. glyzinerger Neurone im DCN korreliert. Dabei wurden separate Analysen durchgeführt, in die jeweils junge und allen alten Tieren, junge und die der Gruppe Alt I bzw. junge und die der Gruppe Alt II mit einbezogen wurden. Die Tabelle listet die p-Werte und zeigt, dass in keiner dieser Korrelationen eine Wahrscheinlichkeit unter 0,05 erreicht wurde und somit kein signifikanter Effekt des Alters auf die Dichte der GABAergen und glyzinerger Zellen feststellbar war.

In den Säulendiagrammen 34A und 34B sind die Mittelwerte mit Standardabweichungen der Zelldichten für die jungen und alten Tiere jeweils für GABA- bzw. für glyzinexprimierende Neurone gegenübergestellt. Im Mittel nimmt zwar die Zelldichte zwischen Jung und Alt für GABA um 10% und für Glyzin um 21%

zu, aber angesichts der Standardabweichung konnten auch mit dem Mann-Withney-U Test keine signifikanten Gruppenunterschiede festgestellt werden (vergleiche Tabelle 57).



Diagr. 34: Gegenüberstellung der Mittelwerte mit Standardabweichungen der Zelldichten GABAerger (A) und glyzinerger (B) Neurone junger und aller alten Tiere im DCN.

Mann-Withney-U Test

	GABA	Glyzin
Jung/Alt	0,522	0,328

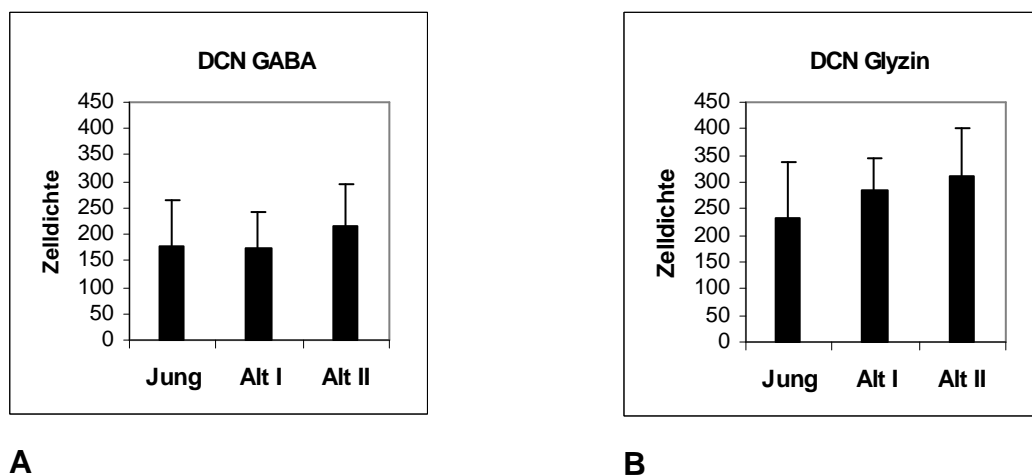
Tab. 57: Statistische Auswertung des Dichtevergleichs GABAerger bzw. glyzinerger Neurone im DCN zwischen jungen und allen alten Tieren. Die Tabelle listet die p-Werte und zeigt, dass in keinem dieser Vergleiche eine Wahrscheinlichkeit unter 0,05 erreicht wurde und somit kein signifikanter Unterschied der Anzahl an GABAerger bzw. glyzinerger Zellen zwischen den jungen und alten Tieren feststellbar war.

In den Säulendiagrammen 35A und 35B sind die Mittelwerte und Standardabweichungen der jungen Tiere den Mittelwerten beider Gruppen Alt I und Alt II gegenübergestellt.

Im Mittel zeigt sich bei der GABAFärbung, dass die Dichtezunahme der alten Tiere hauptsächlich bei der Gruppe Alt II wiederzufinden ist, wobei der Dichtemittelwert der Gruppe Alt I sogar im Vergleich zu jungen Tieren leicht abnimmt. Bei der Glyzinfärbung nimmt die Dichte der Gruppe Alt I im Mittel um 18% und die Dichte der Gruppe Alt II um 25% zu. Vergleicht man mit dem Kruskal-Wallis Test die drei

Altersgruppen miteinander, zeigt dieser aber für beide Färbungen keinen signifikanten Unterschied zwischen den Dichten der jungen Tiere, Alt I und Alt II. Weitere paarweise Vergleiche der Mittelwerte zwischen Jung und Alt I, Jung und Alt II oder auch Alt I und Alt II sind somit nicht mehr zulässig. Die Ergebnisse des Kruskal Wallis Test sind in Tabelle 58 aufgeführt.

Die Ergebnisse der Analyse der Zelldichte stimmen weitgehend mit denen für die Anzahl der inhibitorischen Zellen überein. Wenn überhaupt gibt es eher Hinweise für eine altersbedingte Zunahme, insbesondere glyzinerger Zellen, während die hier vorliegenden Ergebnisse keinerlei Hinweis auf einen Verlust liefern.



Diagr. 35: Gegenüberstellung der Mittelwerte mit Standardabweichungen der Zelldichten GABAerger (A) und glyzinerger (B) Neurone der Gruppe der jungen Tiere, der Gruppe Alt I und der Gruppe Alt II im DCN.

Kruskal-Wallis Test

	GABA	Glyzin
Jung / Alt I / Alt II	0,505	0,550

Tab. 58: Statistische Auswertung des Dichtevergleichs GABAerger bzw. glyzinerger Neurone im DCN zwischen jungen Tieren, Tiere der Gruppe Alt I und Alt II. Die Tabelle listete die p-Werte und zeigt, dass in keinem dieser Vergleiche eine Wahrscheinlichkeit unter 0,05 erreicht wurde und somit kein signifikanter Unterschied der Dichten der GABAerger bzw. glyzinerger Zellen innerhalb den drei Gruppen Jung, Alt I und Alt II feststellbar war. Weiterführende Tests zum Vergleich der einzelnen Gruppen untereinander sind somit nicht mehr zulässig.

4.2.2 Zelldichte in der molekularen und tiefen Schicht des DCN

Zur Untersuchung altersbedingter Dichteänderungen GABAerger und glyzinerger Neurone jeweils in der molekularen und tiefen Schicht des DCN sind in den Diagrammen 36A für GABA und 36B für Glyzin für die beiden Schichten die Mittelwerte und die Standardabweichungen junger und alter Gerbils nebeneinander aufgetragen. In Tabelle 59A und 59B sind für GABA und Glyzin die einzelnen Dichten der zwei Bereiche aufgelistet.

Die Dichten GABAerger Neurone alter Tiere unterscheiden sich im Diagramm 36A sowohl in der molekularen, als auch in der tiefen Schicht nur geringfügig von den Dichten junger Tiere. Zumindest ist keine Abnahme der Dichte GABAerger Neuronen bei alten Tieren innerhalb beider Schichten erkennbar. Statistische Berechnungen mittels der Spearmann Rang Korrelation, die den Einfluss des Alters auf die Dichten GABAerger Neurone von Jung und unter Einbeziehung aller alten Tieren bestimmt, bestätigen weder für die molekulare, noch für die tiefe Schicht, signifikante Änderungen (Tabelle 60). Vergleiche der Dichtemittelwerte GABAerger Neurone junger und alter Tiere mittels des Mann-Withney-U Tests ergeben ebenfalls in keiner der beiden Schichten einen signifikanten Unterschied (Tabelle 61).

Für glyzinerge Neurone steigt die Dichte alter Tiere im Vergleich zu jungen Tieren sowohl in der molekularen, als auch in der tiefen Schicht des DCN erkennbar an. Doch keiner der beiden statistischen Tests bestätigt für eine der beiden Schichten einen signifikanten Einfluss des Alters auf die Dichte (Spearmann Rang Korrelation in Tabelle 60), noch eine signifikante Zunahme der Dichte glyzinerger Neurone alter Tiere im Vergleich zu jungen Tieren (Mann-Withney-U Test in Tabelle 61). Beide Tests zeigen, dass die geringfügig höheren Dichten glyzinerger Neurone alter Tiere sowohl in der molekularen, als auch in der tiefen Schicht des DCN sich in der vorliegenden Stichprobe nicht signifikant von denen junger Tiere unterscheiden.

Zusammenfassend lässt sich kein Einfluß des Alters auf die Dichten inhibitorischer Neurone im DCN feststellen. Zumindest gibt es keinen Hinweis dafür, dass im DCN die Dichte inhibitorischer Neurone mit dem Alter abnimmt. Auch bei getrennter Betrachtung der molekularen bzw. tiefen Schicht des DCN lässt sich kein Hinweis dafür feststellen. Vielmehr zeigen die Ergebnisse eher eine geringfügige Zunahme, die aber in den vorliegenden Stichproben nicht signifikant waren.

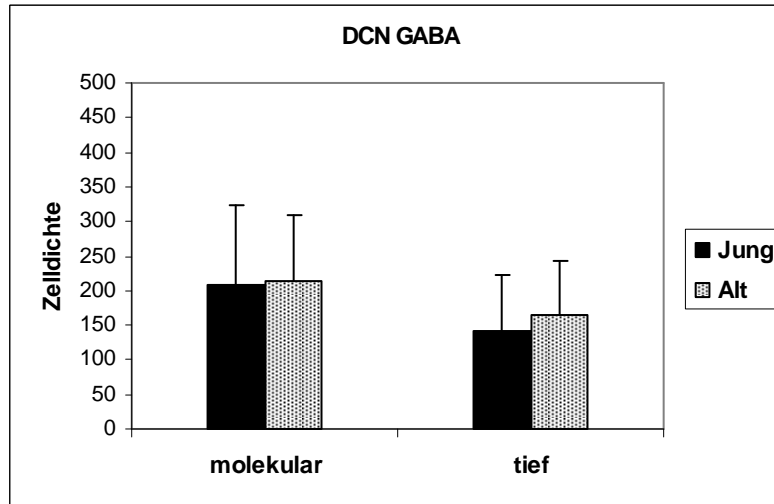
Tier (Nummer)	Alter (Monate)	DCN molekulare Schicht	DCN tiefe Schicht	Gruppe
697	4	167,01	171,02	1
713	4	227,43	183,29	1
727	4	216,76	60,16	1
666	6	71,95	61,66	1
710	8	161,91	147,01	1
711	8	197,50	102,54	1
838	8	452,09	305,23	1
705	15	299,58	189,16	1
768	16	82,14	62,34	1
702	36	246,13	278,50	3
798	36	157,83	184,12	2
764	37	214,36	131,44	2
805	38	233,48	143,53	3
808	38	238,04	220,94	3
759	40	179,58	141,51	2
793	40	72,51	61,08	2
819	41	116,69	101,85	3
762	42	180,39	71,09	2
815	42	214,89	55,19	2
785	43	348,09	269,93	2
786	43	201,96	224,71	2
822	43	376,21	135,70	3
795	46	128,63	200,39	3
827	48	108,49	131,56	3
839	51	412,45	301,73	3

A

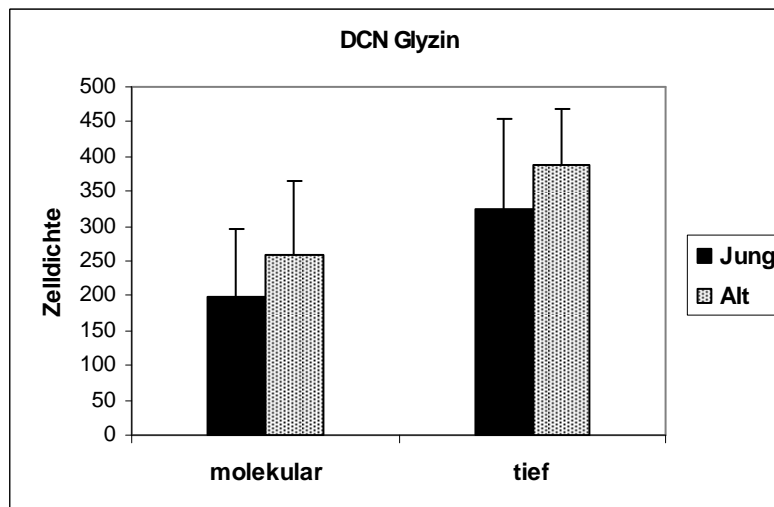
Tier (Nummer)	Alter (Monate)	DCN molekulare Schicht	DCN tiefe Schicht	Gruppe
697	4	209,52	315,99	1
713	4	12,60	77,54	1
718	4	231,94	276,75	1
727	4	244,83	430,38	1
838	8	325,48	350,80	1
760	11	145,33	329,71	1
768	16	209,78	485,86	1
798	36	200,93	518,20	2
764	37	324,77	529,84	2
805	38	308,77	278,97	3
808	38	285,08	358,18	3
793	40	288,82	364,44	2
819	41	161,33	317,31	3
762	42	167,20	356,38	2
763	42	156,92	441,30	2
786	43	161,42	400,70	2
822	43	511,12	363,37	3
782	57	274,36	349,04	2

B

Tab. 59: Auflistung der Zelldichten (pro mm²) GABAerger (A) und glyzinerger (B) Neurone entsprechend dem Alter für die molekulare und die tiefe Schicht des DCN. Gruppe 1: junge Tiere; Gruppe 2: Alt I; Gruppe 3: Alt II.



A



B

Diagr. 36: Gegenüberstellung der Dichtemittelwerte und Standardabweichungen für GABA (A) und für Glyzin (B), junger und aller alter Tiere für die molekulare und die tiefe Schicht des DCN.

Spearman Rang Korrelation

Jung/Alt	GABA	Glyzin
molekular	0,765	0,690
tief	0,482	0,280
Jung/Alt I		
molekular	0,869	0,991
tief	0,788	0,134
Jung/Alt II		
molekular	0,661	0,267
tief	0,353	0,299

Tab. 60: Statistische Auswertung inwieweit das Alter mit der Dichte GABAerger- bzw. glyzinerger Neurone in der molekularen und tiefen Schicht des DCN korreliert. Dabei wurden separate Analysen durchgeführt, in die jeweils junge und alle alten Tiere, junge und die der Gruppe Alt I bzw. junge und die der Gruppe Alt II mit einbezogen wurden. Die Tabelle listet die p-Werte und zeigt, dass in keiner dieser Korrelationen eine Wahrscheinlichkeit unter 0,05 erreicht wurde und somit kein signifikanter Effekt des Alters auf die Dichte der GABAergen und glyzinerger Zellen feststellbar war.

Mann-Whitney-U Test

Jung/Alt	GABA	Glyzin
molekular	0,803	0,425
tief	0,598	0,179

Tab. 61: Statistische Auswertung des Dichtevergleichs GABAerger bzw. glyzinerger Neurone in der molekularen und tiefen Schicht des DCN zwischen jungen und allen alten Tieren. Die Tabelle listet die p-Werte und zeigt, dass in keinem dieser Vergleiche eine Wahrscheinlichkeit unter 0,05 erreicht wurde und somit kein signifikanter Unterschied in der Anzahl GABAerger bzw. glyzinerger Zellen zwischen jungen und alten Tieren feststellbar war.

Im Folgenden sollen altersbedingte Dichteänderungen GABAerger und glyzinerger Neurone jeweils in der molekularen und tiefen Schicht des DCN für die beiden Gruppen Alt I und Alt II untersucht werden. Dafür wurden im Säulendiagramm 37A für die GABAFärbung und in dem Säulen-Diagramm 37B für die Glyzinfärbung die Dichtemittelwerte und Standardabweichungen junger Tiere, die der Gruppe Alt I und der Gruppe Alt II für die molekulare und die tiefe Schichte des DCN gegenübergestellt.

Die Dichten GABAerger Neurone der Gruppe Alt I nehmen in der molekularen Schicht im Mittel im Vergleich zu jungen Tieren ab (Diagramm 37A). Aber die Korrelation nach Spearman ergibt hier keinen signifikanten Einfluß des Alters, der auf

eine Abnahme der Dichte GABAerger Neurone beim Vergleich junger Tiere und alter Tiere aus der Gruppe Alt I (Tabelle 60) hinweisen würde. Die Dichten GABAerger Neurone der Gruppe Alt II sind in der molekularen Schicht im Vergleich zu jungen Tieren jedoch höher. Aber auch hier konnte die Spearman Rang Korrelation keine signifikanten Werte erreichen (Tabelle 60). Somit hat das Alter beim Vergleich junger Tiere mit der Gruppe Alt II in der molekularen Schicht keinen signifikanten Einfluß auf die Dichte GABAerger Neurone.

In der tiefen Schicht des DCN nehmen die Dichten GABAerger Neurone aus der Gruppe Alt II im Vergleich zu den Dichten junger Tiere zu (Diagramm 37A). Die Spearman Rang Korrelation weist aber nicht darauf hin, dass das Alter einen signifikanten Einfluß hat (Tabelle 60). Die Dichten GABAerger Neurone der Gruppe Alt I unterscheidet sich von den jungen Tieren in der tiefen Schicht unmerklich. Somit ergibt die Rangkorrelation kein signifikantes Ergebnis, wenn junge Tiere mit der Gruppe Alt I verglichen werden (Tabelle 60).

Die Dichten glyzinerger Neurone beider Gruppen Alt I und Alt II sind im Vergleich zu jungen Tieren in der molekularen Schicht des DCN höher (Diagramm 37B). Der Dichteunterschied ist zwischen jungen Tieren und der Gruppe Alt II am größten. Dennoch zeigt die statistische Überprüfung keinen signifikanten Einfluß des Alters auf die Dichten glyzinerger Neurone in der molekularen Schicht, wenn junge Tiere mit den Gruppen Alt I oder Alt II verglichen werden (Tabelle 60).

In der tiefen Schicht finden sich die höchsten Dichten glyzinerger Neurone in der Gruppe Alt I. Die Spearman Rang Korrelation weist aber darauf hin, dass das Alter keinen signifikanten Einfluß hat, wenn junge Tiere und die der Gruppe Alt I betrachtet werden (Tabelle 60). Die Dichten glyzinerger Neurone der Gruppe Alt II unterscheidet sich von den jungen Tieren in der tiefen Schicht unmerklich. Die Rangkorrelation ergibt auch hier kein signifikantes Ergebnis (Tabelle 60).

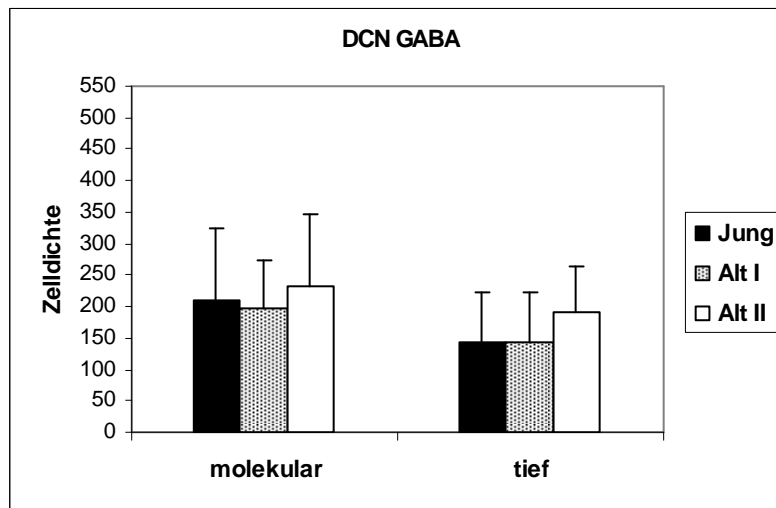
Um zu überprüfen, ob es Unterschiede in der Dichte inhibitorischer Neurone zwischen den Gruppen junger Tiere, Alt I und Alt II gibt, werden die Dichten der drei Altersgruppen für molekulare und tiefe Schicht des DCN mittels des Kruskal-Wallis Test verglichen.

Für die GABAfärbung in der molekularen und tiefen Schicht zeigen sich keine signifikanten Unterschiede innerhalb der drei Gruppen Jung, Alt I, Alt II. Der p-Wert liegt hier für die molekulare Schicht bei 0,670 und in der tiefen Schicht bei 0,403.

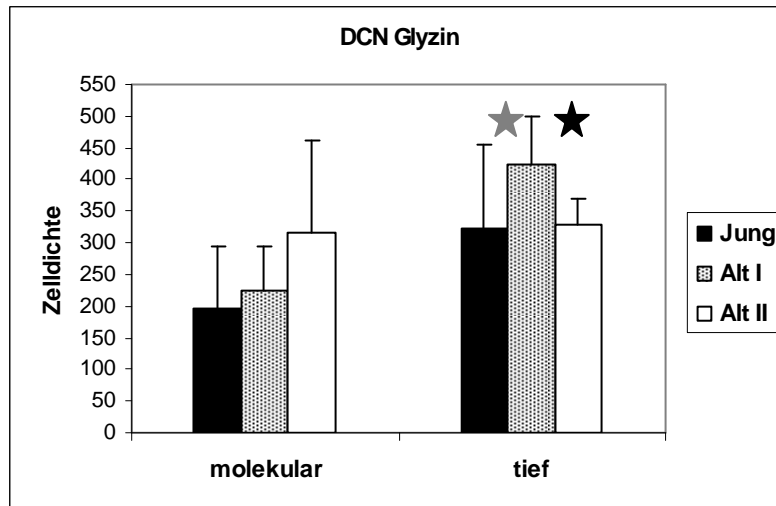
Weitere Vergleiche mit dem Mann-Whitney-U Test von Jung mit Alt I, Jung mit Alt II und Alt I mit Alt II sind in beiden Schichten in der GABAfärbung nicht zulässig. In der Glyzinfärbung ergibt sich in der molekularen Schicht des DCN ebenfalls kein signifikantes Ergebnis. Beim Vergleich der Dichten glyzinerger Neurone von Jung, Alt I und Alt II in der tiefen Schicht des DCN ergibt sich ein p-Wert von $p=0,085$. Dieser Wert ist zwar nicht signifikant, weist aber auf einen Trend hin, dass sich die Dichten glyzinerger Neurone junger Tiere und die der beiden Gruppen Alt I und II in der tiefen Schicht des DCN signifikant unterscheiden (Diagramm 37B). Sämtliche Werte des Kruskal-Wallis Test sind in Tabelle 62 aufgelistet.

Für die glyzinergeren Neurone in der tiefen Schicht des DCN werden nun neben der Spearman Rang Korrelation die Dichten der jungen Tiere mit den Dichten der Tiere aus den beiden Gruppen Alt I und Alt II bzw. die Dichten von Alt I mit Alt II mit dem Mann-Whitney-U Test verglichen. Beim Vergleich Jung mit Alt I ergibt sich ein Wert von $p=0,073$. Dieser Wert ist nicht signifikant, gibt aber einen Trend an, dass sich die Dichten der glyzinergeren Neurone der Gruppe Alt I in der tiefen Schicht des DCN im Vergleich zu denen junger Tiere signifikant unterscheiden. Jedoch muß angemerkt werden, dass bereits der vorausgegangenen Kruskal-Wallis Test nur einen Trend dahingehend aufwies, dass es innerhalb Jung, Alt I und Alt II einen signifikanten Unterschied gibt. Beim Vergleich Jung mit Alt II ergibt sich ein Wert weit über 0,05. Die Dichten der beiden Gruppen Alt I und Alt II unterscheiden sich bei diesem Test jedoch signifikant. Der p-Wert liegt hier bei 0,038. Bei der Bewertung des Unterschieds in der Zelldichte zwischen Alt I und Alt II muss ebenso kritisch berücksichtigt werden, weil beim Kruskal-Wallis Test beim Vergleich der 3 Gruppen nur ein $p = 0.085$ erreicht wurde. Die Ergebnisse des Mann-Whitney-U Tests zum Vergleich der Dichten glyzinerger Neurone von Jung mit Alt I, Jung mit Alt II und Alt I mit Alt II für die tiefe Schicht des DCN sind in Tabelle 63 aufgelistet.

Zusammenfassend lässt sich in der vorliegenden Stichprobe kein signifikanter Einfluß des Alters auf die Dichten inhibitorischer Neurone in der molekularen und tiefen Schicht des DCN feststellen, wenn junge Tiere mit den Gruppen Alt I und Alt II verglichen werden (Tabelle 60). Auch in diesen Gruppen gibt es keine Hinweise darauf, daß die Dichten GABAerger und glyzinerger Neurone in den beiden Schichten des DCN abnehmen.



A



B

Diagr. 37: Gegenüberstellung der Dichtemittelwerte mit Standardabweichungen für GABA (A) und für Glyzin (B), junger Tiere und der Gruppen Alt I und Alt II, für die molekulare und tiefe Schicht des DCN. (schwarzer Stern= signifikanter Dichteunterschied, $p < 0.05$; grauer Stern = Dichteunterschied mit tendentieller Wahrscheinlichkeit, $p < 0.1$)

Kruskal-Wallis Test

Jung / Alt I / Alt II	GABA	Glyzin
molekular	0,670	0,398
tief	0,403	0,085

Tab. 62: Statistische Auswertung des Dichtevergleichs GABAerger bzw. glyzinerger Neurone im DCN zwischen jungen Tieren, Tieren der Gruppe Alt I und Alt II für die molekulare und tiefe Schicht des DCN. Die Tabelle listete die p-Werte und zeigt für die Glyzinfärbung in der tiefen Schicht einen Signifikanzwert unter 0,1 (fett markiert). Dies weist auf einen Trend hin, dass

es in der tiefen Schicht des DCN einen statistisch signifikanten Dichteunterschied glyzinerger Neurone innerhalb der drei Altersgruppen gibt.

Mann-Whitney-U Test

tief	Glyzin
Jung/Alt I	0,073
Jung/Alt II	0,927
Alt I/Alt II	<u>0,038</u>

Tab. 63: Statistische Auswertung des Dichtevergleichs glyzinerger Neurone für die tiefe Schicht des DCN zwischen Jung und der Gruppe Alt I, Jung und der Gruppe Alt II bzw. Alt I und Alt II. Die Tabelle listet die p-Werte. Statistisch signifikante Werte sind fett markiert und unterstrichen, Werte, die auf einen Trend hinweisen, sind fett markiert. Die Berechnung dieses Tests für die molekulare Schicht und für die GABAfärbung ist aufgrund des vorangegangenen nicht signifikanten Kruskal-Wallis Test formal nicht zulässig.

Für die molekulare und die tiefe Schicht des DCN ist noch zu untersuchen, wie sich die Zelldichten zwischen diesen beiden Schichten verhalten. Vergleicht man im Diagramm 36A altersunabhängig die Dichten GABAerger Neurone der molekularen Schicht mit denen der tiefen Schicht, fällt eine generell höhere Dichte GABAerger Neurone in der molekularen Schicht auf. Bei der Glyzinfärbung im Diagramm 36B hingegen sind die Dichten in der tiefen Schicht deutlich höher als in der molekularen Schicht.

Um signifikante Dichteunterschiede zwischen den beiden Schichten des DCN festzustellen, werden die Dichten der zwei Schichten als zwei verbundene Stichproben durch den Wilcoxon-Test verglichen. Da die vorausgehende Analyse ergeben hat, dass keine signifikanten Unterschiede zwischen jungen und alten Tieren vorlagen, werden für die Analyse möglicher Unterschiede zwischen der molekularen und tiefen Schicht die Daten von Jung und Alt zusammengefasst. Auf eine Unterscheidung zwischen Jung und Alt kann verzichtet werden. Dieser Vergleich ergab für GABA einen Signifikanzwert von $p=0,003$ und für Glyzin $p=0,001$ (vergleiche Tabelle 64). Somit zeigt sich, dass es im Vergleich zur tiefen Schicht in der molekularen Schicht eine signifikant höhere Dichte GABAerger Neurone gibt und in der tiefen Schicht im Vergleich zur molekularen Schicht eine signifikant höhere Dichte glyzinerger Neurone. Die Unterschiede, die in Diagramm 36 erkennbar sind, sind damit hoch signifikant.

Wilcoxon-Test		
Zelldichte (pro mm ²)	GABA	Glyzin
	<u>0,003</u>	<u>0,001</u>
	N=25	N=18

Tab. 64: Statistische Auswertung über Dichteunterschiede zwischen der molekularen und tiefen Schicht des DCN für GABA und Glyzin. Die Auswertung wurde für alle Tiere unabhängig vom Alter gemacht. Die Tabelle listet die p-Werte und zeigt, dass sich die Dichten zwischen molekularer und tiefer Schicht aller Altersgruppen in der GABA- und Glyzinfärbung signifikant unterscheiden. Statistisch signifikante Werte sind fett markiert und unterstrichen.

4.2.3 Zelldichte im ventralen, mittleren und dorsalen DCN

Für den DCN bleibt zu klären, ob sich jeweils im ventralen (tieffrequenten), mittleren (mittelfrequenten) und dorsalen (hochfrequenten) Bereich des DCN ein altersbedingter Unterschied in der Neuronendichte zeigt.

Dazu sind in den Diagrammen 38A für GABA und 38B für Glyzin für die drei Frequenzbereiche die Mittelwerte und die Standardabweichungen junger und alter Gerbils nebeneinander aufgetragen. In Tabelle 65A und 65B sind für GABA und Glyzin die einzelnen Dichten der drei Bereiche aufgelistet.

Beim Vergleich der Dichtemittelwerte GABAerger Neurone junger und alter Tiere im Diagramm 38A fällt auf, dass in allen drei Bereichen die Dichten GABAerger Neurone der alten Tiere im Mittel etwas höher sind als die der jungen. Im Diagramm 38B fällt dieser Unterschied für die Dichten glyzinerger Neurone etwas deutlicher aus. Statistische Berechnungen mittels der Spearman Rang Korrelation und auch mittels des Mann-Whitney-U Tests ergeben beim Vergleich junger mit alten Tieren keine Werte, die auf einen signifikanten Dichteunterschied GABAerger und glyzinerger Neurone junger und alter Gerbils in den 3 untersuchten Frequenzbereichen hindeuten. Innerhalb der drei frequenzspezifischen Bereiche des DCN gibt es keinen signifikanten Effekt des Alters auf die Dichten GABA- bzw. glyzinerger Neurone. Die Ergebnisse in Diagramm 38 zeigen, dass es in keinem der drei Bereiche, in denen hohe (dorsal), mittlere (mittig) und tiefe (ventral) Frequenzen abgebildet werden, Hinweise für eine Abnahme der Dichte inhibitorischer Neurone bei alten Tieren gibt.

Die Ergebnisse für die Rangkorrelation sind in Tabelle 66 und für den Gruppenvergleich in Tabelle 67 aufgeführt.

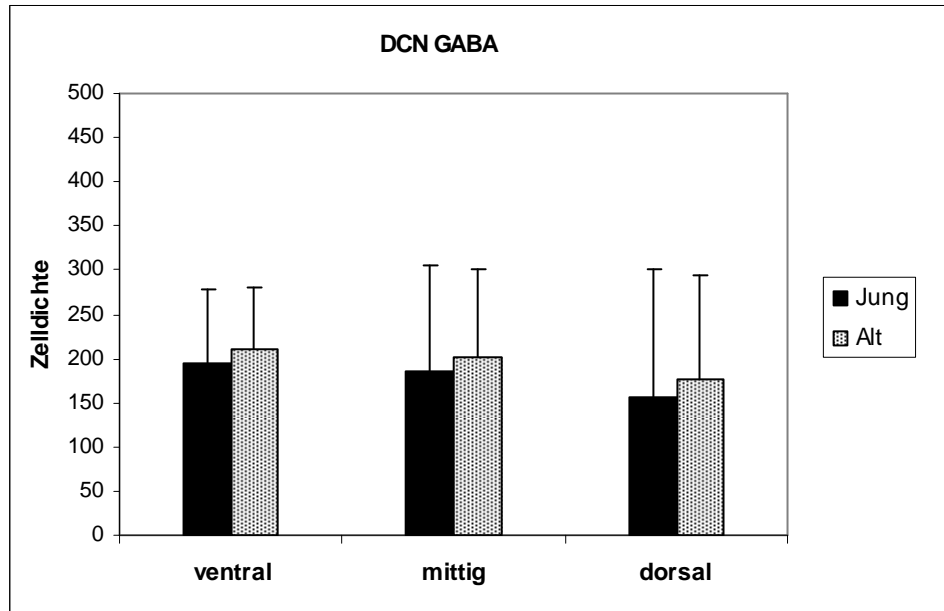
Tier (Nummer)	Alter (Monate)	DCN medial	DCN mittig	DCN lateral	Gruppe
697	4	130,68	173,50	213,12	1
713	4	85,70	202,95	322,79	1
727	4	83,76	172,08	180,73	1
666	6	39,94	51,24	119,45	1
710	8	149,19	150,77	170,31	1
711	8	53,11	204,62	243,24	1
838	8	562,58	365,65	194,44	1
705	15	192,87	284,92	269,35	1
768	16	98,92	67,50	42,99	1
702	36	176,81	350,18	276,46	3
798	36	91,82	198,01	238,99	2
764	37	264,94	117,25	152,04	2
805	38	134,75	245,64	222,19	3
808	38	240,56	245,46	202,99	3
759	40	182,72	170,52	122,29	2
793	40	29,36	63,91	118,98	2
819	41	67,97	115,51	154,94	3
762	42	78,36	77,51	292,80	2
815	42	70,16	130,03	271,75	2
785	43	328,50	416,24	179,17	2
786	43	256,34	215,54	138,70	2
822	43	304,85	257,34	256,62	3
795	46	91,37	175,03	225,39	3
827	48	83,64	134,70	130,28	3
839	51	432,14	315,10	366,30	3

A

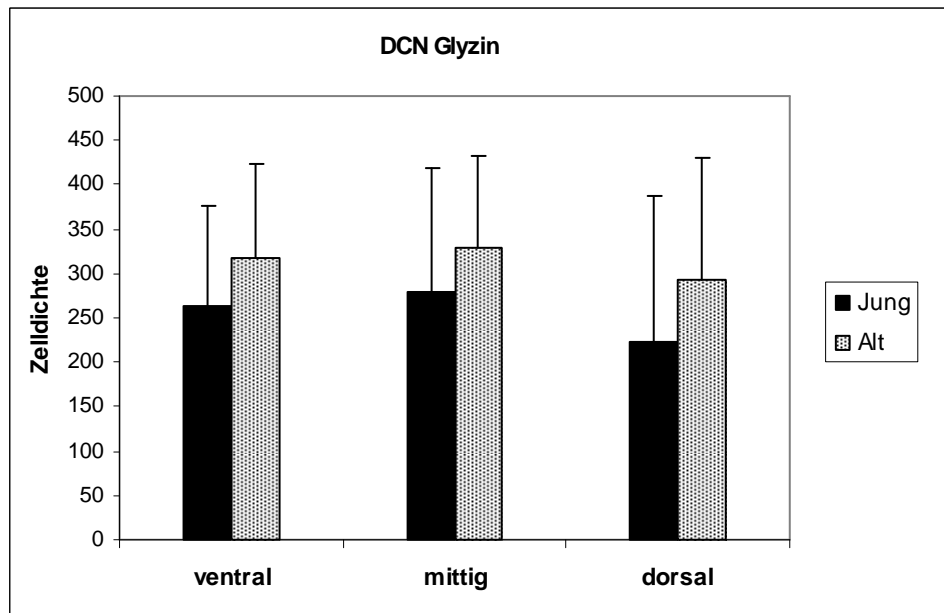
Tier (Nummer)	Alter (Monate)	DCN medial	DCN mittig	DCN lateral	Gruppe
697	4	84,05	462,36	328,78	1
713	4	17,03	68,52	40,07	1
718	4	207,35	224,19	324,74	1
727	4	487,89	299,44	179,31	1
838	8	220,90	438,58	332,17	1
760	11	149,37	173,62	326,17	1
768	16	389,81	289,77	308,61	1
798	36	330,81	233,12	316,65	2
764	37	487,31	400,94	389,83	2
805	38	213,50	356,34	329,03	3
808	38	492,91	253,61	204,75	3
793	40	262,27	345,82	371,93	2
819	41	94,95	370,44	249,45	3
762	42	223,83	171,64	364,68	2
763	42	226,67	312,00	269,21	2
786	43	359,88	223,18	109,92	2
822	43	417,02	488,36	507,04	3
782	57	122,86	473,04	377,13	2

B

Tab. 65: Auflistung der Zelldichten (pro mm²) GABAerger (A) und glyzinerger (B) Neurone entsprechend dem Alter für den medialen, den mittigen und den lateralen Teil des DCN. Gruppe 1: junge Tiere; Gruppe 2: Alt I; Gruppe 3: Alt II.



A



B

Diagr. 38: Gegenüberstellung der Dichtemittelwerte und Standardabweichungen für GABA (A) und für Glyzin (B), junger und aller alter Tiere für den ventralen (niedrigfrequenten), den mittigen (mittelfrequenten) und den dorsalen (hochfrequenten) Bereich des DCN.

Spearman Rang Korrelation

Jung/Alt	GABA	Glyzin
ventral	0,837	0,229
mittig	0,656	0,320
dorsal	0,339	0,450
Jung/Alt I		
ventral	0,566	0,278
mittig	0,989	0,666
dorsal	0,442	0,445
Jung/Alt II		
ventral	0,631	0,348
mittig	0,463	0,252
dorsal	0,266	0,292

Tab. 66: Statistische Auswertung inwieweit das Alter mit der Dichte GABAerger bzw. glyzinerger Neurone im ventralen (tieffrequenten), mittigen (mittelfrequenten) und dorsalen (hochfrequenten) Bereich des DCN korreliert. Dabei wurden separate Analysen durchgeführt, in die jeweils die jungen und alle alten Tieren, die jungen und die der Gruppe Alt I bzw. die jungen und die der Gruppe Alt II mit einbezogen wurden. Die Tabelle listet die p-Werte und zeigt, dass in keiner dieser Korrelationen eine Wahrscheinlichkeit unter 0,05 erreicht wurde und somit kein signifikanter Effekt des Alters auf die Dichte der GABAergen und glyzinerger Zellen feststellbar war.

Mann-Whitney-U Test

Jung/Alt	GABA	Glyzin
ventral	0,760	0,285
mittig	0,803	0,425
dorsal	0,487	0,246

Tab. 67: Statistische Auswertung des Dichtevergleichs GABAerger bzw. glyzinerger Neurone für den ventralen (tieffrequenten), mittigen (mittelfrequenten) und dorsalen (hochfrequenten) Bereich des DCN zwischen jungen und allen alten Tieren. Die Tabelle listet die p-Werte und zeigt, dass in keinem dieser Vergleiche eine Wahrscheinlichkeit unter 0,05 erreicht wurde und somit kein signifikanter Unterschied der Anzahl der GABAerger bzw. glyzinerger Zellen zwischen den jungen und alten Tieren feststellbar war.

Um einen Vergleich der Dichten der beiden Gruppen Alt I und Alt II zu den Dichten junger Tiere in den drei Frequenzbereiche vornehmen zu können, wurde in dem Säulendiagramm 39A für die GABAFärbung und in dem Säulendiagramm 39B für die Glyzinfärbung die Dichtemittelwerte und Standardabweichungen junger Tiere, die der Gruppe Alt I und der Gruppe Alt II für den ventralen, den mittigen und den dorsalen Bereich gegenübergestellt.

Die Dichten GABAerger Neurone der Gruppe Alt I unterscheiden sich von den Dichten junger Tiere in allen drei Frequenzbereichen geringfügig (Diagramm 39A). Im ventralen und mittigen Bereich sind die Dichten der Gruppe Alt I im Mittel sogar niedriger als von jungen Tieren. Die Spearman Rang Korrelation zeigt hier aber keinen signifikanten Einfluß des Alters beim Vergleich der Dichten GABAerger Neurone junger Tiere und der Gruppe Alt I (Tabelle 66). Dagegen liegen die Dichten GABAerger Neurone der Gruppe Alt II in allen Frequenzbereichen höher als die der jungen und Alt I. Aber auch hier ergibt die Spearman Rang Korrelation beim Vergleich junger Tiere mit Alt II keinen Hinweis auf einen signifikanten Einfluß des Alters bei der Zunahme der Dichte GABAerger Neurone (Tabelle 66).

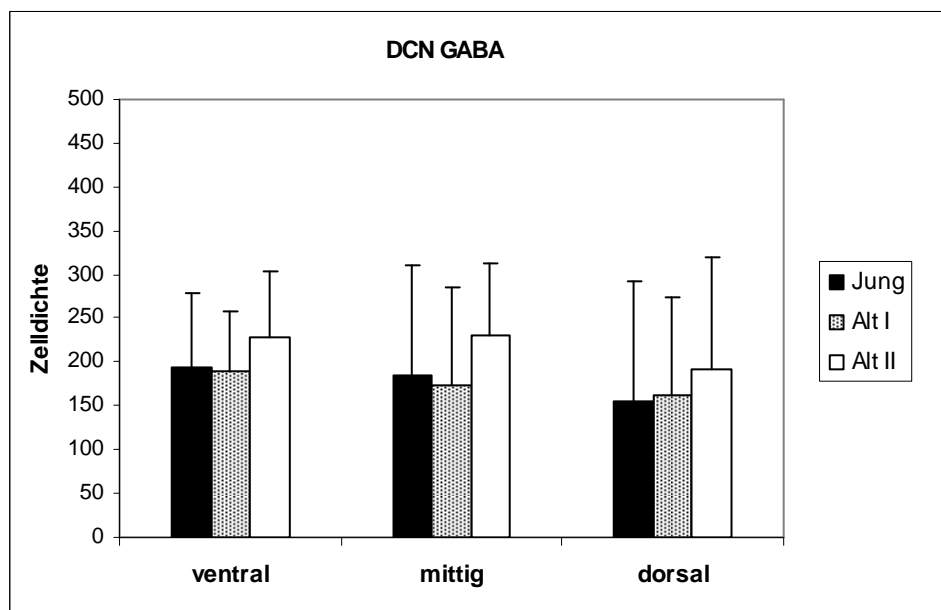
Der Kruskal-Wallis Test untersucht in einem Dreivergleich die Dichtemittelwerte der jungen Tieren, die der Gruppe Alt I und Alt II. Werden so die Dichtemittelwerte GABAerger Neurone für den ventralen, mittigen und dorsalen Bereich verglichen (Diagramm 39A), gibt es für keinen der drei Frequenzbereiche des DCN signifikante Unterschiede (Tabelle 68). Die Dichten GABAerger Neurone junger Tiere, die der Gruppe Alt I und Alt II unterscheiden sich in keinem der drei Frequenzbereiche signifikant. Weitere paarweise Vergleiche mit dem Mann-Whitney-U Test, der die Dichtemittelwerte von Jung mit Alt I, Jung mit Alt II bzw. Alt I mit Alt II vergleicht, sind für GABA nicht mehr zulässig.

Die Dichten glyzinerger Neurone von Alt I liegen in allen drei Frequenzbereichen höher als die der jungen Tiere (Diagramm 39B). Die Analyse mittels der Spearman Rang Korrelation findet hier aber keinen signifikanten Einfluß (Tabelle 66). Der Unterschied der Dichtewerte junger Tiere und die der Gruppe Alt II ist dabei noch größer. Einen signifikanten Einfluß des Alters auf die Dichtezunahme glyzinerger Neurone beim Vergleich junger Tiere und der Gruppe Alt II wäre hier zu erwarten. Die Spearman Rang Korrelation erreicht beim Vergleich Jung mit Alt II aber keine signifikanten Werte (Tabelle 66). Somit zeigt das Alter für keinen der drei Frequenzbereiche signifikanten Einfluß auf die Dichte glyzinerger Neurone, wenn junge Tiere mit Alt I bzw. Alt II verglichen werden.

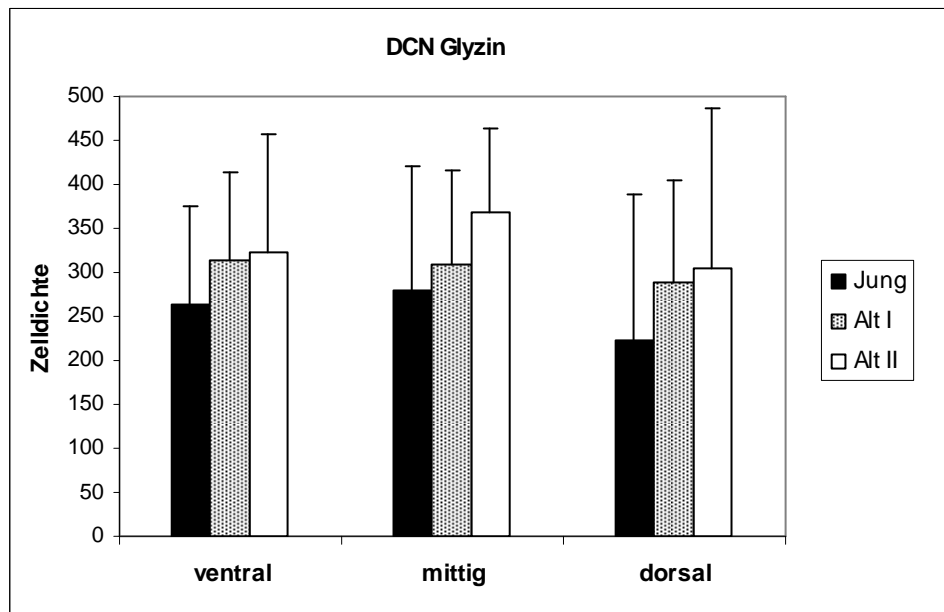
Vergleiche der Dichtemittelwerte glyzinerger Neurone von jungen Tieren, die der Gruppe Alt I und Alt II durch den Kruskal-Wallis Test, ergeben keine signifikanten Unterschiede (Diagramm 39B, Tabelle 68). Die Dichten glyzinerger Neurone junger Tiere, die der Gruppe Alt I und Alt II unterscheiden sich in keinem der drei

Frequenzbereiche signifikant. Weitere paarweise Vergleiche mit dem Mann-Whitney-U Test, der die Dichtemittelwerte von Jung mit Alt I, Jung mit Alt II bzw. Alt I mit Alt II vergleicht, sind auch für Glyzin nicht mehr zulässig.

Zusammenfassend lässt sich kein signifikanter Einfluß des Alters auf die Dichten inhibitorischer Neurone innerhalb der drei Frequenzbereiche des DCN feststellen, wenn junge Tiere mit den Gruppen Alt I und Alt II verglichen werden (Tabelle 66). Auch in diesen Altersgruppen gibt es keine Hinweise darauf, daß die Dichten GABAerger und glyzinerger Neurone in den drei Frequenzbereichen abnehmen. Es zeigen sich eher Zunahmen, die jedoch nicht als signifikant bestätigt werden konnten.



A

**B**

Diagr. 39: Gegenüberstellung der Dichtemittelwerte mit Standardabweichungen für GABA (A) und für Glyzin (B), junger Tiere und der Gruppen Alt I und Alt II, für den ventralen (tieffrequenten), mittigen (mittelfrequenten) und dorsalen (hochfrequenten) Bereich des DCN.

Kruskal-Wallis Test

Jung / Alt I / Alt II	GABA	Glyzin
ventral	0,518	0,499
mittig	0,331	0,418
dorsal	0,711	0,474

Tab. 68: Statistische Auswertung des Dichtevergleichs GABAerger bzw. glyzinerger Neurone im DCN zwischen jungen Tieren, Tiere der Gruppe Alt I und Alt II für den ventralen (tieffrequenten), mittigen (mittelfrequenten) und dorsalen (hochfrequenten) Bereich des DCN. Die Tabelle listete die p-Werte und zeigt, dass in keinem dieser Vergleiche eine Wahrscheinlichkeit unter 0,05 erreicht wurde und somit kein signifikanter Unterschied der Dichte GABAerger bzw. glyzinerger Neurone innerhalb der drei Gruppen Jung, Alt I und Alt II feststellbar war. Weiterführende Tests zum Vergleich der einzelnen Gruppen untereinander sind somit nicht mehr zulässig.

Vergleicht man nun den Verlauf der Dichtewerte für GABAerge Neurone im Diagramm 38A unabhängig ihrer Altersgruppe entlang der Tonotopieachse, sind die Werte sehr ähnlich. Im niedrigfrequenten, ventralen Teil des DCN sind die Werte für die Dichte GABAerger Neurone geringfügig höher als im dorsalen, hochfrequenten Teil des DCN. Dies ist sowohl für die jungen als auch für die alten Tiere der Fall. In

der Glyzinfärbung im Diagramm 38B ergeben sich die höchsten Dichten im mittigen Bereich. Im dorsalen, hochfrequenten Teil des DCN ist die Zelldichte am niedrigsten. Auch dies ist sowohl für die jungen als auch für die alten Tiere erkennbar. Eine monotone Dichteänderung glyzinerger Neurone entlang der Frequenzabbildung lässt sich nicht feststellen. Um signifikante Dichteunterschiede innerhalb der drei Frequenzbereiche des DCN festzustellen, werden die Dichten der drei Bereiche als drei verbundene Stichproben durch den Friedman Test verglichen. Bei der Berechnung nach Friedman kann auf eine Unterscheidung zwischen Jung und Alt verzichtet werden, da die vorausgehende Analyse ergeben hat, dass keine signifikanten Unterschiede zwischen jungen und alten Tieren vorlagen. Deshalb werden für die Analyse möglicher Unterschiede zwischen den dorsalen, mittleren und ventralen Bereichen des DCN die Daten von Jung und Alt zusammengefasst. Der mit diesen Gesamtdaten erfolgte Vergleich der drei frequenzspezifischen Bereiche des DCN mittels Friedman Test zeigt, dass weder bei GABA noch bei Glyzin signifikante Unterschiede der Zelldichte zwischen den drei Bereichen vorliegen (Tabelle 69).

Friedmann Test

Zelldichte (pro mm ²)	GABA	Glyzin
Gesamt	0,103 N=25	0,311 N=18

Tab. 69: Statistische Auswertung über Dichteunterschiede zwischen den drei Frequenzbereichen im DCN für GABA und Glyzin. Es ergeben sich keine statistisch relevanten Werte.

4.2.4 Zelldichte im ventralen, mittigen und dorsalen Bereich der molekularen Schicht des DCN

Die bisherige Untersuchung zu möglichen Unterschieden zwischen den tonotopen Bereichen hat nicht zwischen molekularer und tiefer Schicht differenziert. Diese Unterscheidung wird im Folgenden noch berücksichtigt.

Nun soll untersucht werden, ob sich jeweils im ventralen (tieffrequenten), mittigen (mittelfrequenten) und dorsalen (hochfrequenten) Bereich der molekularen Schicht

des DCN ein altersbedingter Unterschied in der Neuronendichte zeigt. Dazu sind in den Diagrammen 40A für GABA und 40B für Glyzin für die drei Frequenzbereiche die Mittelwerte und die Standardabweichungen junger und alter Gerbils nebeneinander aufgetragen. In Tabelle 70A und 70B sind für GABA und Glyzin die einzelnen Dichten der drei Bereiche aufgelistet.

Beim Vergleich der Dichtemittelwerte junger und alter Tiere im Diagramm 40A zeigen sich keine nennenswerten Unterschiede der Dichten GABAerger Neurone für die drei Frequenzbereiche. Korrelationen zwischen Alter und Dichte GABAerger Neurone sind im molekularen ventralen, molekularen mittigen und molekularen dorsalen Teil des DCN nicht zu erwarten (Tabelle 71, 72).

Bei der Glyzinfärbung (Diagramm 40B) ist die Dichte der Zellen in den drei tonotopen Bereichen der molekularen Schicht bei den alten Tieren höher als bei den jungen Tieren. Jedoch zeigen statistische Berechnungen mittels der Spearman Rang Korrelation und auch mittels des Mann-Whitney-U Tests, dass die altersbedingten Unterschiede in Diagramm 40 statistisch nicht signifikant sind. Die Ergebnisse für die Rangkorrelation sind in Tabelle 71 und für den Gruppenvergleich in Tabelle 72 aufgeführt.

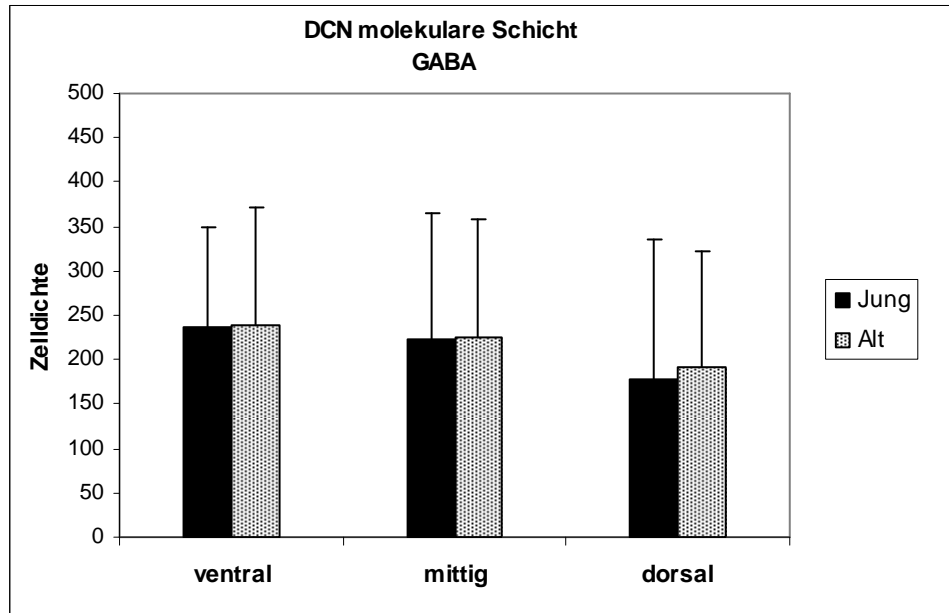
Tier (Nummer)	Alter (Monate)	DCN molekular dorsal	DCN molekular mittig	DCN molekular ventral	Gruppe
697	4	108,20	172,56	233,96	1
713	4	207,87	180,98	324,62	1
727	4	152,23	262,80	274,83	1
666	6	40,35	48,36	131,75	1
710	8	145,78	176,04	165,39	1
711	8	20,66	268,70	372,48	1
838	8	549,70	530,43	227,86	1
705	15	258,06	284,06	361,41	1
768	16	118,11	81,54	33,85	1
702	36	155,89	285,32	303,33	3
798	36	99,22	162,02	233,86	2
764	37	317,38	92,46	227,71	2
805	38	165,26	300,68	240,77	3
808	38	195,59	366,69	136,39	3
759	40	268,09	108,59	128,64	2
793	40	24,01	63,07	147,31	2
819	41	78,88	179,86	97,19	3
762	42	96,35	84,88	431,95	2
815	42	100,92	174,11	402,90	2
785	43	313,10	564,15	172,22	2
786	43	190,07	246,52	166,21	2
822	43	402,16	382,74	343,16	3
795	46	57,19	194,03	153,49	3
827	48	110,73	133,28	77,44	3
839	51	480,26	270,43	541,50	3

A

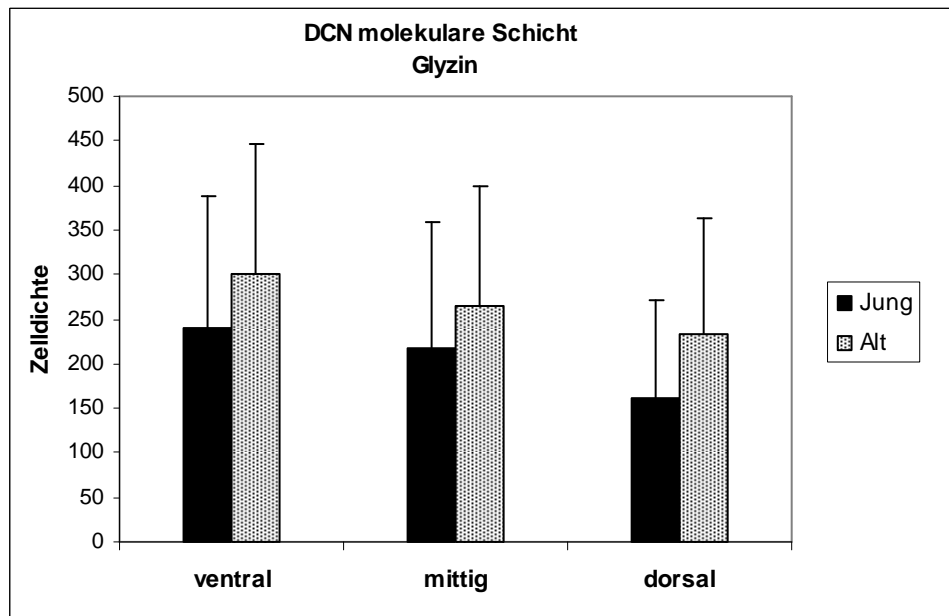
Tier (Nummer)	Alter (Monate)	DCN molekular dorsal	DCN molekular mittig	DCN molekular ventral	Gruppe
697	4	83,83	350,72	286,10	1
713	4	26,86	0,00	0,00	1
718	4	192,15	221,07	297,58	1
727	4	364,43	221,34	128,41	1
838	8	150,23	427,53	469,42	1
760	11	89,39	105,77	281,08	1
768	16	216,30	192,53	220,09	1
798	36	175,85	151,52	265,78	2
764	37	294,15	285,53	411,66	2
805	38	263,19	321,19	346,24	3
808	38	484,37	236,97	124,11	3
793	40	247,96	321,51	301,92	2
819	41	61,48	234,04	208,18	3
762	42	128,59	95,32	358,31	2
763	42	110,99	194,23	181,92	2
786	43	256,90	134,40	78,02	2
822	43	413,91	583,54	555,84	3
782	57	138,99	346,85	466,94	2

B

Tab. 70: Auflistung der Zelldichten (pro mm²) GABAerger (A) und glyzinerger (B) Neurone entsprechend dem Alter für den medialen, den mittigen und den lateralen Teil der molekularen Schicht des DCN. Gruppe 1: junge Tiere; Gruppe 2: Alt I; Gruppe 3: Alt II.



A



B

Diagr. 40: Gegenüberstellung der Dichtemittelwerte und Standardabweichungen für GABA (A) und für Glyzin (B), junger und aller alter Tiere für den ventralen (niedrigfrequenten), den mittigen (mittelfrequenten) und den dorsalen (hochfrequenten) Bereich der molekularen Schicht des DCN.

Spearman Rang Korrelation

Jung/Alt	GABA	Glyzin
ventral	0,781	0,357
mittig	0,632	0,582
dorsal	0,609	0,483
Jung/Alt I		
ventral	0,692	0,459
mittig	0,778	0,803
dorsal	0,770	0,595
Jung/Alt II		
ventral	0,696	0,455
mittig	0,374	0,222
dorsal	0,601	0,246

Tab. 71: Statistische Auswertung inwieweit das Alter mit der Dichte GABAerger bzw. glyzinerger Neurone im ventralen (tieffrequenten), mittigen (mittelfrequenten) und dorsalen (hochfrequenten) Bereich der molekularen Schicht des DCN korreliert. Dabei wurden separate Analysen durchgeführt, in die jeweils die jungen und allen alten Tieren, die jungen und die der Gruppe Alt I bzw. die jungen und die der Gruppe Alt II mit einbezogen wurden. Die Tabelle listet die p-Werte und zeigt, dass in keiner dieser Korrelationen eine Wahrscheinlichkeit unter 0,05 erreicht wurde und somit kein signifikanter Effekt des Alters auf die Dichte der GABAergen und glyzinerger Zellen feststellbar war.

Mann-Whitney-U Test

Jung/Alt	GABA	Glyzin
ventral	0,803	0,536
mittig	0,846	0,596
dorsal	0,760	0,246

Tab. 72: Statistische Auswertung des Dichtevergleichs GABAerger bzw. glyzinerger Neurone für den ventralen (tieffrequenten), mittigen (mittelfrequenten) und dorsalen (hochfrequenten) Bereich der molekularen Schicht des DCN zwischen jungen und allen alten Tieren. Die Tabelle listet die p-Werte und zeigt, dass in keinem dieser Vergleiche eine Wahrscheinlichkeit unter 0,05 erreicht wurde und somit kein signifikanter Unterschied in der Anzahl GABAerger bzw. glyzinerger Zellen zwischen jungen und alten Tieren feststellbar war.

Zum Vergleich der Dichten der beiden Tiergruppen Alt I und Alt II mit den Dichten junger Tiere für die drei Frequenzbereiche der molekularen Schicht wurde in dem Säulendiagramm 41A für die GABAFärbung und in dem Säulendiagramm 41B für die Glyzinfärbung die Dichtemittelwerte und Standardabweichungen junger Tiere, die der Gruppe Alt I und der Gruppe Alt II für den ventralen, den mittigen und den dorsalen Bereich gegenübergestellt.

Die Dichten der GABAergen Neurone der Gruppe Alt I unterscheidet sich im ventralen und dorsalen Bereich kaum von der Dichte junger Tiere. Im mittigen Teil der molekularen Schicht wird die Dichte der Gruppe Alt I im Vergleich zu den jungen Tieren im Mittel kleiner (Diagramm 41A). Ein signifikanter Einfluß des Alters wird aber in keinem der drei Frequenzbereiche durch die Spearman Rang Korrelation beim Vergleich junger Tiere mit Alt I bestätigt (Tabelle 71).

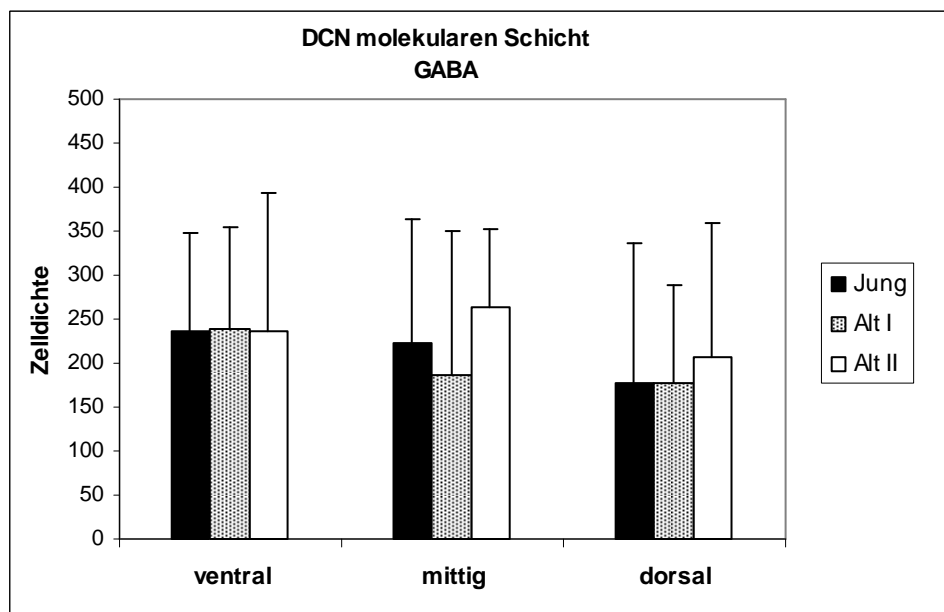
Die Dichten GABAerger Neurone der Gruppe Alt II ähneln im ventralen Bereich der molekularen Schicht den Dichten der jungen Tiere und der Gruppe Alt I, wobei im mittigen Teil die Dichten von Alt II im Vergleich zu den jungen Tieren und Alt I deutlich höher liegen. Im dorsalen Bereich ist der Unterschied von Alt II zu Jung bzw. Alt I nicht mehr ganz so stark (Diagramm 41A). Die Spearman Rang Korrelation erreicht beim Vergleich junger Tiere mit Alt II jedoch für keine der drei Frequenzbereiche signifikante Werte (Tabelle 71). In den drei Frequenzbereichen der molekularen Schicht des DCN hat das Alter somit keinen signifikanten Einfluß auf die Dichten GABAerger Neurone der Gruppe Alt II.

Im mittigen Teil fallen die Dichteunterschiede zwischen Jung/Alt I, Jung/Alt II und Alt I/Alt II am deutlichsten aus. Werden die Dichten aller drei Altersgruppen, Jung, Alt I und Alt II, mit dem Kruskal-Wallis Test verglichen, zeigen sich weder im ventralen, dorsalen noch im mittigen Bereich signifikante Werte (Tabelle 73). Weitere paarweise Vergleiche mit dem Mann-Whitney-U Test, der die Dichtemittelwerte von Jung mit Alt I, Jung mit Alt II bzw. Alt I mit Alt II vergleicht, sind für GABA in den drei tonotopen Frequenzbereichen der molekularen Schicht nicht mehr zulässig.

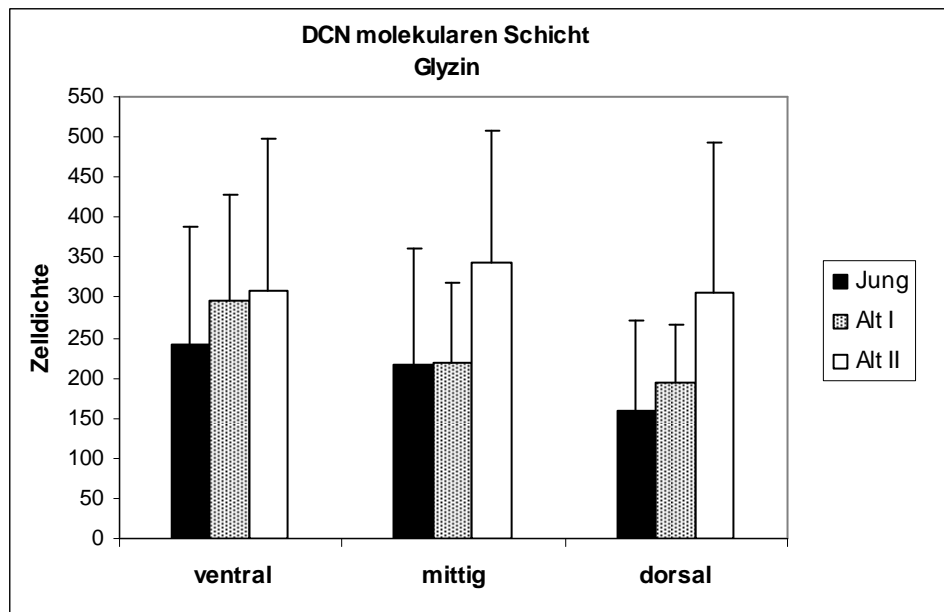
Im Diagramm 41B sind die Dichtemittelwerte glyzinerger Neurone junger Tiere im Vergleich zu den beiden Altersgruppen Alt I und Alt II in allen drei Frequenzbereichen am niedrigsten. Die Dichtemittelwerte der Gruppe Alt II sind stets am größten, gefolgt von den Werten der Gruppe Alt I. Somit nehmen im Mittel die Dichten beider Gruppen Alt I und Alt II im Vergleich zu jungen Tieren in allen drei Frequenzbereichen zu. Die deutlichste Dichtezunahme zwischen Jung und Alt II fällt im mittigen und dorsalen Teil auf. Der größte Unterschied zwischen Jung und Alt I liegt im ventralen Bereich. Beim Vergleich junger Tiere und Alt I ergeben Analysen mit der Spearman Rang Korrelation keine signifikanten Werte. Auch beim Vergleich junger Tiere mit Alt II zeigt das Alter keinen signifikanten Einfluß auf die Dichte glyzinerger Neurone (Tabelle 71).

Werden die Dichten aller drei Altersgruppen, Jung, Alt I und Alt II, mit dem Kruskal-Wallis Test verglichen, zeigen sich weder im ventralen, dorsalen noch im mittigen Bereich signifikante Dichteunterschiede glyzinerger Neurone (Tabelle 73). Weitere paarweise Vergleiche mit dem Mann-Whitney-U Test, der die Dichtemittelwerte von Jung mit Alt I, Jung mit Alt II bzw. Alt I mit Alt II vergleicht, sind auch für Glyzin in den drei tonotopen Frequenzbereichen der molekularen Schicht nicht mehr zulässig.

Zusammenfassend lässt sich kein Einfluß des Alters auf die Dichten inhibitorischer Neurone innerhalb der drei Frequenzbereiche der molekularen Schicht des DCN feststellen, wenn junge Tiere mit alten Tieren bzw. mit den Gruppen Alt I und Alt II verglichen werden (Tabellen 71, 72). Auch in diesen Altersgruppen gibt es wenige Hinweise darauf, daß die Dichten GABAerger und glyzinerger Neurone in den drei Frequenzbereichen abnehmen. Es zeigen sich eher Zunahmen, die jedoch nicht als signifikant bestätigt werden konnten.



A

**B**

Diagr. 41: Gegenüberstellung der Dichtemittelwerte mit Standardabweichungen für GABA (A) und für Glyzin (B), junger Tiere und der Gruppen Alt I und Alt II, für den ventralen (tieffrequenten), mittigen (mittelfrequenten) und dorsalen (hochfrequenten) Bereich der molekularen Schicht des DCN.

Kruskal-Wallis Test

Jung / Alt I / Alt II	GABA	Glyzin
ventral	0,934	0,791
mittig	0,106	0,331
dorsal	0,891	0,302

Tab. 73: Statistische Auswertung des Dichtevergleichs GABAerger bzw. glyzinerger Neurone im DCN zwischen jungen Tieren, Tiere der Gruppe Alt I und Alt II für den ventralen (tieffrequenten), mittigen (mittelfrequenten) und dorsalen (hochfrequenten) Bereich der molekularen Schicht des DCN. Die Tabelle listete die p-Werte und zeigt, dass in keinem dieser Vergleiche eine Wahrscheinlichkeit unter 0,05 erreicht wurde und somit kein signifikanter Unterschied der Dichte GABAerger bzw. glyzinerger Neuronen innerhalb den drei Gruppen Jung, Alt I und Alt II feststellbar war. Weiterführende Tests zum Vergleich der einzelnen Gruppen untereinander sind somit nicht mehr zulässig.

Nun wird die molekulare Schicht des DCN dahingehend untersucht, ob sich innerhalb der drei Frequenzbereiche Dichteunterschiede für GABAerge und glyzinerge Neurone ergeben.

Vergleicht man den Verlauf der Dichtewerte in den Diagrammen 40A und 40B unabhängig ihrer Altersgruppe entlang der Tonotopieachse, zeigen sich für beide Färbungen eine monotone Abnahme der Dichten vom ventralen, niedrigfrequenten, über den mittigen, mittelfrequenten zum dorsalen, hochfrequenten Bereich hin. Zur Analyse wird der Friedmann Test angewendet. Der Friedmann Test wird über alle Tiere durchgeführt. Auf eine Unterscheidung zwischen Jung und Alt wird verzichtet, da die vorausgegangenen Tests keinen Unterschied zwischen Jung und Alt gezeigt haben (Tabelle 71, 72). Der über alle Tiere durchgeführte Test ergab für GABA einen Wert von $p=0,141$ und für Glyzin $p=0,154$ (vergleiche Tabelle 74). Dies zeigt, dass die Dichten beider Färbungen zwar monoton von ventral über mittig nach dorsal abnehmen, die Unterschiede zwischen den 3 Bereichen in der molekularen Schicht des DCN in den vorliegenden Stichproben aber nicht signifikant sind.

Friedmann Test

Zelldichte (pro mm ²)	GABA	Glyzin
fusiforme Schicht	0,141 N=25	0,154 N=18

Tab. 74: Statistische Auswertung über Dichteunterschiede zwischen den drei Frequenzbereichen der molekularen Schicht des DCN für GABA und Glyzin. Es ergeben sich keine statistisch relevanten Werte.

4.2.5 Zellichte im ventralen, mittigen und dorsalen Bereich der tiefen Schicht des DCN

Neben der molekularen Schicht, soll auch die tiefe Schicht des DCN jeweils auf altersbedingte Dichteunterschiede innerhalb und zwischen ventralen (tieffrequenten), mittigen (mittelfrequenten) und dorsalen (hochfrequenten) Bereich untersucht werden.

Dazu sind in den Diagrammen 42A für GABA und 42B für Glyzin für die drei Frequenzbereiche die Mittelwerte und die Standardabweichungen junger und alter

Gerbils nebeneinander aufgetragen. In Tabelle 75A und 75B sind für GABA und Glyzin die einzelnen Dichten der drei Bereiche aufgelistet.

Beim Vergleich der Dichtemittelwerte junger und alter Tiere im Diagramm 42A zeigen sich bei den alten Tieren für jeden der drei Bereiche etwas höhere Dichten GABAerger Neurone. Ebenfalls liegen die Dichten glyzinerger Neurone alter Tiere in allen drei Bereichen über denen junger Tiere (Diagramm 42 B).

Eine statistische Analyse mittels der Spearmann Rang Korrelation sowie mittels des Mann-Whitney-U Tests ergeben jedoch, dass diese in Diagramm 42 illustrierten Unterschiede zwischen alten und jungen Tieren in der vorliegenden Stichprobe nicht signifikant waren. Die Ergebnisse für die Rangkorrelation sind in Tabelle 76 und für den Gruppenvergleich in Tabelle 77 aufgeführt.

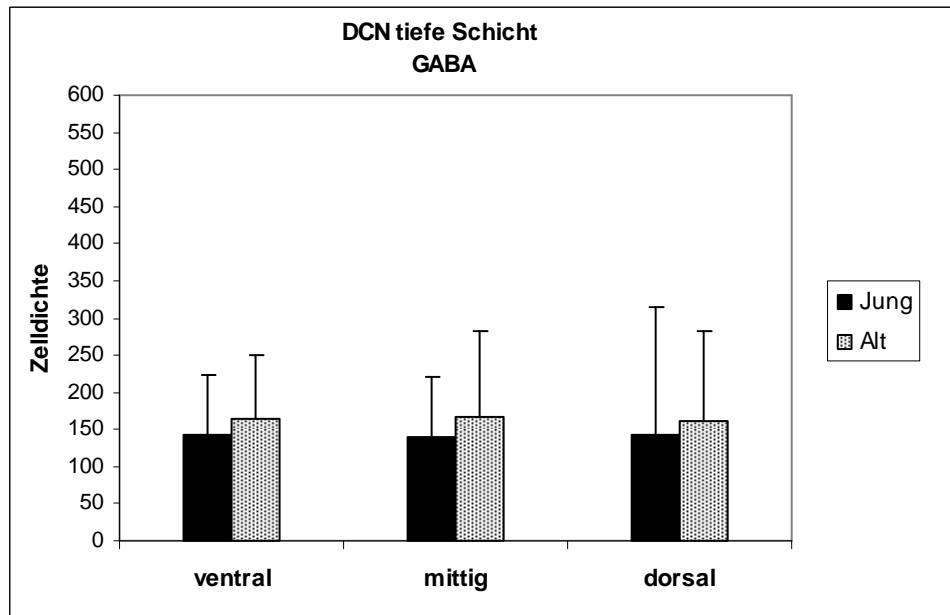
Tier (Nummer)	Alter (Monate)	DCN tief dorsal	DCN tief mittig	DCN tief ventral	Gruppe
697	4	162,12	174,79	178,45	1
713	4	28,96	214,52	322,21	1
727	4	0,00	69,75	111,82	1
666	6	39,43	55,36	100,64	1
710	8	152,97	121,30	177,36	1
711	8	129,28	126,30	54,42	1
838	8	577,37	166,90	148,65	1
705	15	117,38	285,60	137,26	1
768	16	75,60	41,37	58,91	1
702	36	194,18	404,83	245,24	3
798	36	79,89	250,80	247,14	2
764	37	192,62	148,16	79,94	2
805	38	95,19	163,84	190,18	3
808	38	279,06	80,98	292,14	3
759	40	89,09	264,96	112,15	2
793	40	37,79	65,12	82,13	2
819	41	56,30	15,52	225,44	3
762	42	60,58	67,29	99,84	2
815	42	39,15	55,82	82,88	2
785	43	346,94	238,23	189,15	2
786	43	377,38	160,93	73,67	2
822	43	200,53	78,13	80,03	3
795	46	138,75	152,62	322,51	3
827	48	37,61	137,64	197,75	3
839	51	362,89	383,27	120,13	3

A

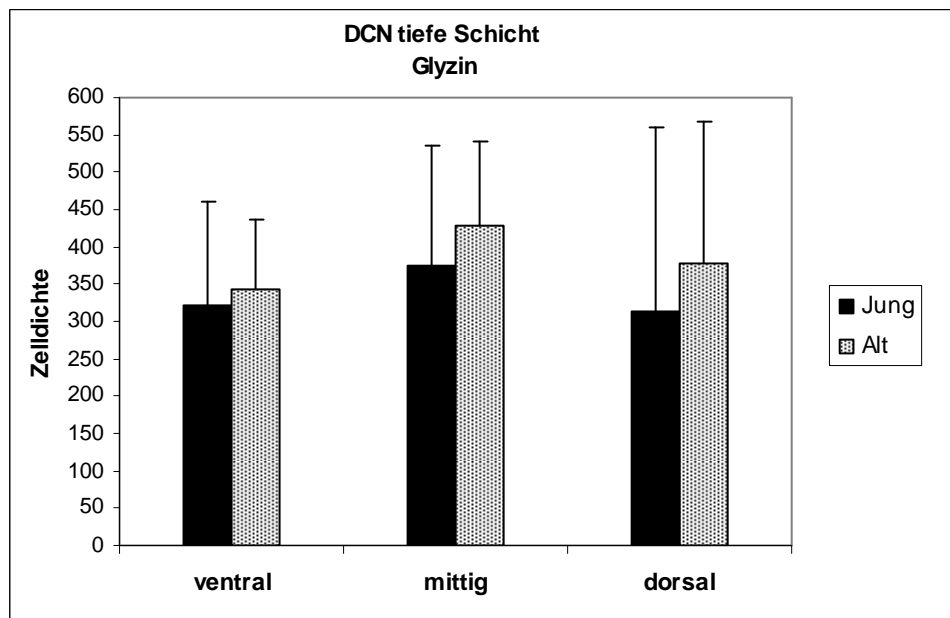
Tier (Nummer)	Alter (Monate)	DCN tief dorsal	DCN tief mittig	DCN tief ventral	Gruppe
697	4	84,40	658,43	414,38	1
713	4	0,00	165,26	95,51	1
718	4	239,40	229,39	366,12	1
727	4	664,87	413,41	234,15	1
838	8	345,03	444,21	234,30	1
760	11	277,31	320,48	447,70	1
768	16	590,53	397,49	465,69	1
798	36	570,93	438,44	521,51	2
764	37	636,61	505,62	366,83	2
805	38	152,20	400,14	299,29	3
808	38	499,62	270,13	278,45	3
793	40	284,39	402,75	457,87	2
819	41	136,11	577,59	324,52	3
762	42	361,54	337,03	373,45	2
763	42	457,28	490,41	389,90	2
786	43	545,89	360,61	203,55	2
822	43	422,29	295,53	328,67	3
782	57	88,59	628,54	239,14	2

B

Tab. 75: Auflistung der Zelldichten (pro mm²) GABAerger (A) und glyzinerger (B) Neurone entsprechend dem Alter für den medialen, den mittigen und den lateralen Teil der tiefen Schicht des DCN. Gruppe 1: junge Tiere; Gruppe 2: Alt I; Gruppe 3: Alt II.



A



B

Diagr. 42: Gegenüberstellung der Dichtemittelwerte und Standardabweichungen für GABA (A) und für Glyzin (B), junger und aller alten Tiere für den ventralen (niedrigfrequenten), den mittigen (mittelfrequenten) und den dorsalen (hochfrequenten) Bereich der tiefen Schicht des DCN.

Spearman Rang Korrelation

Jung/Alt	GABA	Glyzin
ventral	0,991	0,896
mittig	0,956	0,570
dorsal	0,282	0,759
Jung/Alt I		
ventral	0,224	0,694
mittig	0,963	0,404
dorsal	0,347	0,478
Jung/Alt II		
ventral	0,437	0,592
mittig	0,914	0,892
dorsal	0,237	0,564

Tab. 76: Statistische Auswertung inwieweit das Alter mit der Dichte GABAerger bzw. glyzinerger Neurone im ventralen (tieffrequenten), mittigen (mittelfrequenten) und dorsalen (hochfrequenten) Bereich der tiefen Schicht des DCN korreliert. Dabei wurden separate Analysen durchgeführt, in die jeweils die jungen und alle alten Tiere, die jungen und die der Gruppe Alt I bzw. die jungen und die der Gruppe Alt II mit einbezogen wurden. Die Tabelle listet die p-Werte und zeigt, dass in keiner dieser Korrelationen eine Wahrscheinlichkeit unter 0,05 erreicht wurde und somit kein signifikanter Effekt des Alters auf die Dichte der GABAergen und glyzinerger Zellen feststellbar war.

Mann-Withney-U Test

Jung/Alt	GABA	Glyzin
ventral	0,487	0,860
mittig	0,718	0,479
dorsal	0,452	0,536

Tab. 77: Statistische Auswertung des Dichtevergleichs GABAerger bzw. glyzinerger Neurone für den ventralen (tieffrequenten), mittigen (mittelfrequenten) und dorsalen (hochfrequenten) Bereich der tiefen Schicht des DCN zwischen jungen und allen alten Tieren. Die Tabelle listet die p-Werte und zeigt, dass in keinem dieser Vergleiche eine Wahrscheinlichkeit unter 0,05 erreicht wurde und somit kein signifikanter Unterschied in der Anzahl GABAerger bzw. glyzinerger Zellen zwischen jungen und alten Tieren feststellbar war.

Zum Vergleich der Dichten der beiden Altersgruppen Alt I und Alt II mit den Dichten junger Tiere für die drei Frequenzbereiche der tiefen Schicht wurde in dem Säulendiagramm 43A für die GABAFärbung und in dem Säulendiagramm 43B für die Glyzinfärbung die Dichtemittelwerte und Standardabweichungen junger Tiere, die der Gruppe Alt I und der Gruppe Alt II für den ventralen, den mittigen und den dorsalen Bereich gegenübergestellt.

Die Dichten der GABAergen Neurone der Gruppe Alt I unterscheidet sich im mittigen und dorsalen Bereich kaum von der Dichte junger Tiere. Im ventralen Teil der tiefen Schicht wird die Dichte der Gruppe Alt I im Vergleich zu den jungen Tieren im Mittel kleiner (Diagramm 43A). Ein signifikanter Einfluß des Alters wird aber in keinem der drei Frequenzbereiche durch die Spearman Rang Korrelation beim Vergleich junger Tiere mit Alt I bestätigt (Tabelle 76).

Die Dichten GABAerger Neurone der Gruppe Alt II liegen in allen drei Bereichen über den Werten junger Tiere und der Gruppe Alt I. Der Unterschied ist im ventralen Frequenzbereich am höchsten (Diagramm 43A). Die Spearman Rang Korrelation erreicht beim Vergleich junger Tiere mit Alt II jedoch für keine der drei Frequenzbereiche signifikante Werte (Tabelle 76). In den drei Frequenzbereichen der tiefen Schicht des DCN hat das Alter somit keinen signifikanten Einfluß auf die Dichten GABAerger Neurone der Gruppe Alt II.

Im ventralen (niedrigfrequenten) Teil fallen die Dichteunterschiede zwischen Jung/Alt I, Jung/Alt II und Alt I/Alt II am deutlichsten aus. Werden die Dichten aller drei Altersgruppen, Jung, Alt I und Alt II, mit dem Kruskal-Wallis Test verglichen, zeigen sich weder im dorsalen noch im mittigen Bereich signifikante Unterschiede (Tabelle 78). Weitere paarweise Vergleiche mit dem Mann-Whitney-U Test, der die Dichtemittelwerte von Jung mit Alt I, Jung mit Alt II bzw. Alt I mit Alt II vergleicht, sind für GABA in diesen beiden tonotopen Frequenzbereichen der tiefen Schicht nicht mehr zulässig. Für den ventralen Bereich ergibt sich ein Signifikanzwert von $p=0,067$ (vergleiche Tabelle 78). Dieses Ergebnis ist zwar nicht signifikant, weist aber auf einen Trend hin, dass es zwischen den Gruppen junger Tiere sowie Alt I und Alt II im tiefen ventralen Bereich des DCN signifikante Unterschiede der Dichte GABAerger Neurone gibt. Nur für diesen Bereich werden nun die Dichten Jung mit Alt I, Jung mit Alt II und Alt I mit Alt II paarweise mittels Mann-Whitney-U Test verglichen.

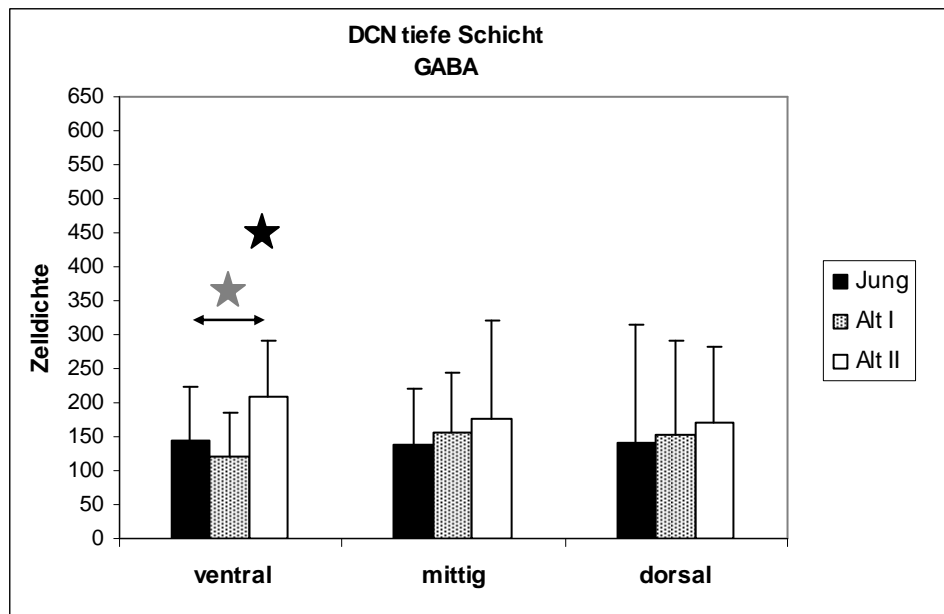
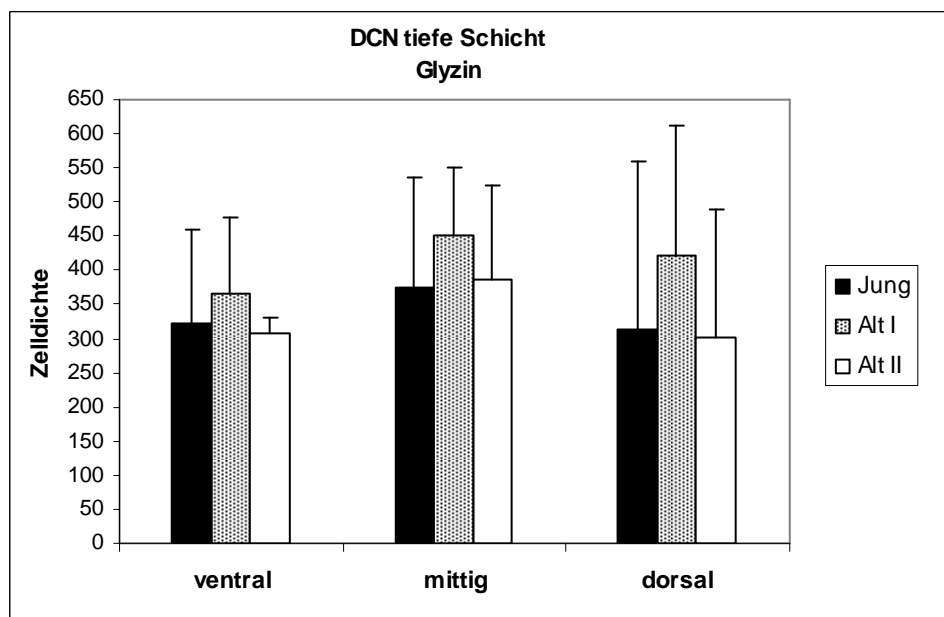
Dabei erweist sich ein Trend dahingehend, dass die Dichten GABAerger Neurone der Altersgruppe Alt II im Vergleich zu jungen Tieren höher ist ($p=0,074$). Die beiden Gruppen Alt I und Alt II unterscheiden sich dagegen signifikant. Die Dichte ist bei den Tieren der Gruppe Alt II signifikant höher als bei denen der Gruppe Alt I (Diagramm 43A). Der p-Wert liegt hier bei 0,038. Jedoch muß bei der Bewertung des Unterschieds in der Zelldichte kritisch berücksichtigt werden, dass bereits der vorausgegangenen Kruskal-Wallis Test nur einen Trend dahingehend aufwies, dass es innerhalb Jung, Alt I und Alt II einen Unterschied gibt. Die Ergebnisse des Mann-

Withney-U Tests zum Vergleich der Dichten GABAerger Neurone von Jung mit Alt I, Jung mit Alt II und Alt I mit Alt II für den tiefen ventralen Bereich des DCN sind in Tabelle 79 aufgelistet.

Im Diagramm 43B sind die Dichtemittelwerte glyzinerger Neurone der Gruppe Alt I in allen drei Bereichen stets höher als die der jungen und der Gruppe Alt II, wobei die deutlichste Dichtezunahme zwischen Jung und Alt I im dorsalen Frequenzbereich auftritt. Die Dichtewerte der Gruppe Alt II unterscheidet sich nur gering von den Dichten junger Tiere, während sie im ventralen und dorsalen Teil der tiefen Schicht etwas niedriger sind als die der jungen Tiere. Beim Vergleich junger Tiere und Alt I ergeben Analysen mit der Spearman Rang Korrelation keine signifikanten Werte. Auch beim Vergleich junger Tiere mit Alt II zeigt das Alter keinen signifikanten Einfluß auf die Dichte glyzinerger Neurone (Tabelle 76).

Werden die Dichten aller drei Altersgruppen, Jung, Alt I und Alt II, mit dem Kruskal-Wallis Test verglichen, zeigen sich weder im ventralen, dorsalen noch im mittigen Bereich signifikante Dichteunterschiede glyzinerger Neurone (Tabelle 78). Weitere paarweise Vergleiche mit dem Mann-Withney-U Test, der die Dichtemittelwerte von Jung mit Alt I, Jung mit Alt II bzw. Alt I mit Alt II vergleicht, sind für Glyzin in den drei tonotopen Frequenzbereichen der tiefen Schicht nicht mehr zulässig.

Zusammenfassend lässt sich kein Einfluß des Alters auf die Dichten inhibitorischer Neurone innerhalb der drei Frequenzbereiche der tiefen Schicht des DCN feststellen, wenn junge Tiere mit alten Tieren bzw. mit den Gruppen Alt I und Alt II verglichen werden (Tabellen 76, 77). In keiner Altersgruppe gibt es einen Hinweis darauf, daß die Dichten GABAerger und glyzinerger Neurone in den drei Frequenzbereichen signifikant abnehmen.

**A****B**

Diagr. 43: Gegenüberstellung der Dichtemittelwerte mit Standardabweichungen für GABA (A) und für Glyzin (B), junger Tiere und der Gruppen Alt I und Alt II, für den ventralen (tieffrequenten), mittigen (mittelfrequenten) und dorsalen (hochfrequenten) Bereich der tiefen Schicht des DCN. (schwarzer Stern= signifikanter Dichteunterschied, $p < 0.05$; grauer = Dichteunterschied mit tendentieller Wahrscheinlichkeit, $p < 0.1$)

Kruskal-Wallis Test

Jung / Alt I / Alt II	GABA	Glyzin
ventral	0,067	0,564
mittig	0,920	0,421
dorsal	0,606	0,526

Tab. 78: Statistische Auswertung des Dichtevergleichs GABAerger bzw. glyzinerger Neurone im DCN zwischen jungen Tieren, Tiere der Gruppe Alt I und Alt II für den ventralen (tieffrequenten), mittigen (mittelfrequenten) und dorsalen (hochfrequenten) Bereich der tiefen Schicht des DCN. Die Tabelle listete die p-Werte und zeigt für die GABAFärbung im tiefen ventralen Bereich des DCN einen Signifikanzwert unter 0,1 (fett markiert). Dies weist auf einen Trend hin, dass es in diesem Bereich des DCN einen statistisch signifikanten Dichteunterschied GABAerger Neurone innerhalb der drei Altersgruppen gibt.

Mann-Whitney-U Test

	GABA
Jung/Alt I ventral	0,606
Jung/Alt II ventral	0,074
Alt I / Alt II ventral	<u>0,038</u>

Tab. 79: Statistische Auswertung des Dichtevergleichs GABAerger Neurone für den tiefen ventralen Bereich des DCN zwischen Jung und der Gruppe Alt I, Jung und der Gruppe Alt II und Alt I und Alt II. Die Tabelle listet die p-Werte. Statistisch signifikante Werte sind fett markiert und unterstrichen; Werte, die auf einen Trend hinweisen, sind fett markiert. Die Berechnung dieses Tests für den tiefen mittigen und tiefen dorsalen Bereich bzw. für die Glyzinfärbung ist aufgrund des vorangegangenen nicht signifikanten Kruskal-Wallis Test formal nicht zulässig.

Die tiefe Schicht des DCN wird noch dahingehend untersucht, ob sich innerhalb der drei Frequenzbereiche Dichteunterschiede für GABAerge und glyzinerge Neurone ergeben.

Vergleicht man im Diagramm 42A zwischen ventralen, mittigen und dorsalen Bereich die Dichten junger Tiere, sind die Werte sehr ähnlich. Auch bei den alten Tieren ändern sich die Werten innerhalb der Tonotopieachse kaum. Ein signifikanter Unterschied der Dichten GABAerger Neurone zwischen den drei Frequenzbereichen in der tiefen Schicht des DCN ist hier nicht zu erwarten. Zur Untersuchung signifikanter Dichtunterschiede innerhalb dieser drei Frequenzbereiche wird der Friedmann Test angewendet. Da laut vorausgegangener Analysen keine

signifikanten Unterschiede zwischen jungen und alten Tieren vorlagen (Tabellen 76, 78), werden für den Friedmann Test die Daten von Jung und Alt zusammengefasst. Der Friedmann Test bestätigt mit einem Signifikanzwert von $p=0,141$ die Vermutung, dass es zwischen den ventralen (niedrigfrequenten), mittigen (mittelfrequenten) und dorsalen (hochfrequenten) Bereichen der tiefen Schicht des DCN keinen signifikanten Unterschied in den Dichten GABAerger Neurone gibt.

In der Glyzinfärbung im Diagramm 42B ergeben sich die höchsten Dichten im mittigen Bereich. Im dorsalen, hochfrequenten Teil des DCN ist die Zelldichte am niedrigsten. Auch dies ist sowohl für die jungen als auch für die alten Tiere erkennbar. Eine monotone Dichteänderung glyzinerger Neurone entlang des Frequenzbereiches lässt sich nicht feststellen. Der Friedmann Test ergibt hier einen Signifikanzwert von weit über 0,05 und zeigt, dass auch bei Glyzin keine signifikanten Unterschiede der Zelldichten zwischen den drei Bereichen vorliegen. Der Friedmann Test ist in Tabelle 80 aufgeführt.

Friedmann Test

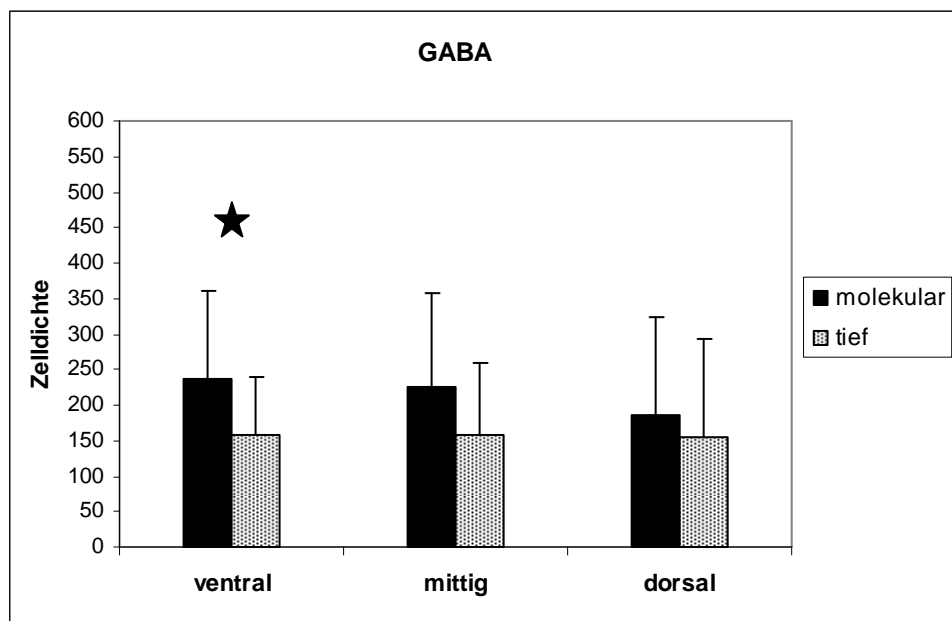
Zelldichte (pro mm ²)	GABA	Glyzin
tiefe Schicht	0,141	0,946
	N=25	N=18

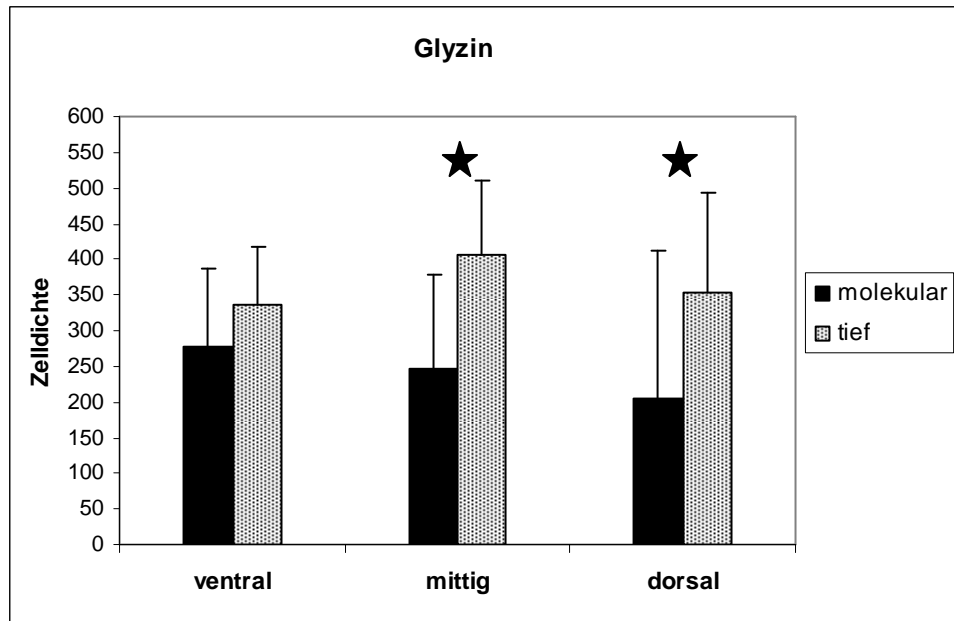
Tab. 80: Statistische Auswertung über Dichteunterschiede zwischen den drei Frequenzbereichen der tiefen Schicht des DCN für GABA und Glyzin. Es ergeben sich keine statistisch relevanten Werte.

4.2.6 Vergleich zwischen molekularer und tiefer Schicht des DCN

Im Folgenden werden Vergleiche zwischen der molekularen und tiefen Schicht des DCN jeweils für die drei tonotopen Bereiche vorgenommen, z.B. werden die Dichten aus dem ventralen Bereich der molekularen Schicht mit den Dichten aus dem ventralen Bereich der tiefen Schicht verglichen. Dazu werden die Dichten der zwei Schichten aus jeweils einem der drei Frequenzbereiche als zwei verbundene Stichproben durch den Wilcoxon-Test verglichen. Da die vorausgehenden Analysen

ergeben haben, dass keine signifikanten Unterschiede zwischen jungen und alten Tieren vorlagen, kann auf eine Unterscheidung zwischen Jung und Alt verzichtet werden. In den Diagrammen 44A und 44B sind die Mittelwerte und Standardabweichungen für die beiden Schichten entsprechend der tonotopen Gliederung für GABA und Glyzin dargestellt. Es zeigt sich, dass in allen drei tonotopen Bereichen in der molekularen Schicht höhere Dichten GABAerger Neurone und in der tiefen Schicht höhere Dichten glyzinerger Neurone bestehen. Die statistische Analyse ergab für GABA nur im ventralen Bereich einen signifikanten Wert von $p=0,028$. Die Dichten GABAerger Neurone sind somit nur im ventralen Bereich des DCN in der molekularen Schicht signifikant größer als in der tiefen Schicht. Im dorsalen und mittigen Bereich war der Unterschied nicht signifikant. In der Glyzinfärbung unterscheiden sich dagegen nur die molekulare und tiefe Schicht des DCN im dorsalen und mittigen Teil signifikant, hier ist die Dichte glyzinerger Neurone in der tiefen Schicht höher als in der molekularen. Die Werte des Wilcoxon-Tests finden sich in Tabelle 81.

**A**



B

Diagr. 44: Gegenüberstellung der Dichtemittelwerte mit Standardabweichungen für GABA (A) und Glyzin (B) aller Tiere unabhängig vom Alter von molekularer und tiefer Schicht für den ventralen (niedrigfrequenten), mittigen (mittelfrequenten) und dorsalen (hochfrequenten) Bereich des DCN. Die dazugehörigen Werte finden sich in Tabelle 82. (schwarzer Stern= signifikanter Dichteunterschied, $p < 0.05$)

Wilcoxon-Test

	GABA	Glyzin
dorsal	0,158	<u>0,004</u>
mitte	0,069	<u>0,002</u>
ventral	<u>0,028</u>	0,122

Tab. 81: Statistische Auswertung über Dichteunterschiede zwischen der molekularen und tiefen Schicht des DCN innerhalb der drei tonotopen Bereiche für GABA und Glyzin. Die Auswertung wurde für alle Tiere unabhängig vom Alter gemacht. Die Tabelle listet die p-Werte. Statistisch signifikante Werte sind fett markiert und unterstrichen; Werte, die auf einen Trend hinweisen, sind fett markiert.

	DCN molekular		DCN tief	
	GABA	Glyzin	GABA	Glyzin
ventral	237,21+/- 123,43	267,76+/- 145,61	157,20+/- 81,8	335,61+/- 108,79
mittig	224,57+/- 133,2	245,78+/- 135,52	156,96+/- 102,62	407,52+/- 132,02
dorsal	186,24+/- 138,08	205,53+/- 125,21	154,84+/- 138,96	353,17+/- 207,72

Tab. 82: Auflistung der Dichtemittelwerte und Standardabweichungen von GABAergen und glyzineren Neuronen für alle Tiere unabhängig vom Alter für die molekulare und tiefe Schicht entsprechend des ventralen (niedrigfrequenten), mittigen (mittelfrequenten) und dorsalen (hochfrequenten) Bereich des DCN.

4.2.7 Vergleich der Dichten GABAerger mit glyzinerger Neurone im DCN

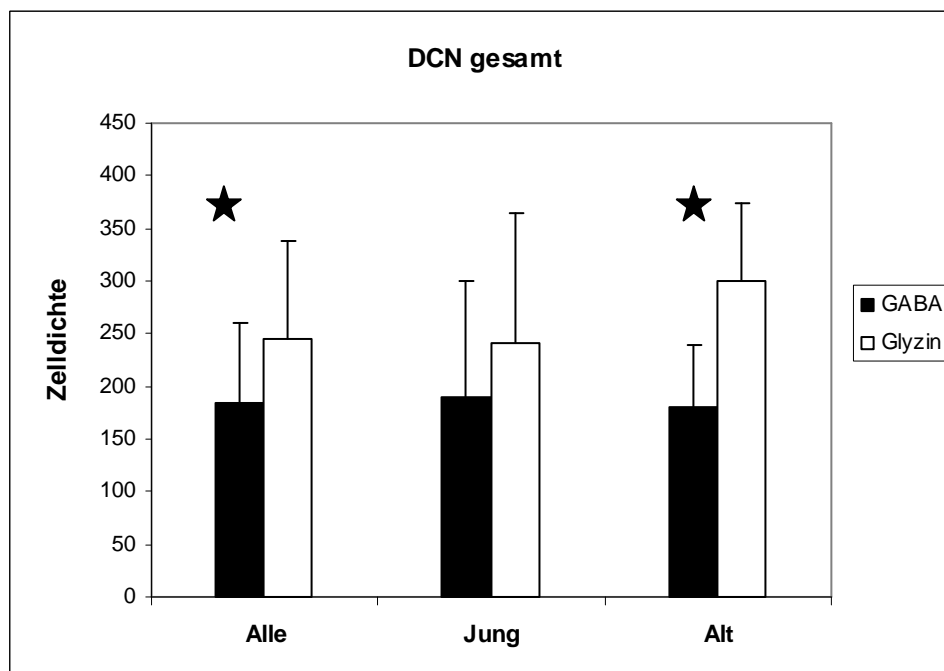
Zuletzt bleibt noch die Frage offen, wie sich die Dichten GABAerger zu glyzinerger Neurone im DCN verhalten.

Zuerst wird der gesamte DCN auf Unterschiede zwischen den Dichten GABAerger und glyzinerger Neurone untersucht. Da durch obige Analysen bestätigt wurde, dass es zwischen der molekularen und tiefen Schicht signifikante Dichteunterschiede für beide Färbungen gibt, werden zusätzlich sowohl die molekulare als auch die tiefe Schicht des DCN separat auf Dichteunterschiede zwischen GABAergen und glyzineren Neuronen untersucht. Der Friedman Test ergab beim Vergleich der Zelldichten innerhalb des ventralen, mittigen und dorsalen Bereichs des DCN keine signifikanten Unterschiede, deshalb werden die drei Frequenzbereiche des DCN für die Untersuchung möglicher Unterschiede in der Dichte zwischen GABAergen und glyzineren Neuronen zusammengefasst.

Zu diesem Zweck werden zuerst für den gesamten DCN im Diagramm 45 die Zelldichten GABAerger und glyzinerger Neurone gegenübergestellt. Es wurden zum Vergleich nur die 14 Tiere verwendet, bei denen beide Färbungen untersucht wurden. Die Werte dazu finden sich in Tabelle 84.

Hier zeigt sich, dass für alle Tiere unabhängig vom Alter, aber auch für die jungen und alle alten Tiere die Zelldichte glyzinerger Neurone deutlich größer ist als die der GABAergen. Der Unterschied fällt für die alten Tiere am deutlichsten aus. Zur

statistischen Untersuchung wird der Wilcoxon-Test zum Paarvergleich zweier verbundener Stichproben verwendet. Es wurden alle Tiere in diesen Vergleich einbezogen und zusätzlich wurde dieser Vergleich separat für die jungen und alten Tiere durchgeführt. Beim Vergleich über alle Tiere hinweg zeigt der Wilcoxon-Test einen Wert von $p=0,011$. Führt man diese Analyse separat für die jungen bzw. alten Tiere durch, ergeben sich für die jungen Tiere aufgrund der geringeren Stichprobengröße von $N=5$ keine signifikanten Unterschiede. Für die alten Tiere ergibt sich ein Signifikanzwert von $p=0,008$. Somit gibt es im gesamten DCN für alle Tiere und speziell für alle alten Tiere signifikant höhere Zelldichten glyzinerger Neurone als GABAerger (vergleiche Tabelle 83). Eine weitere Aufteilung in Alt I bzw. Alt II erübrigt sich, weil dann die Stichprobengröße mit $N=5$ für Alt I bzw. $N= 4$ für Alt II betragen würde.

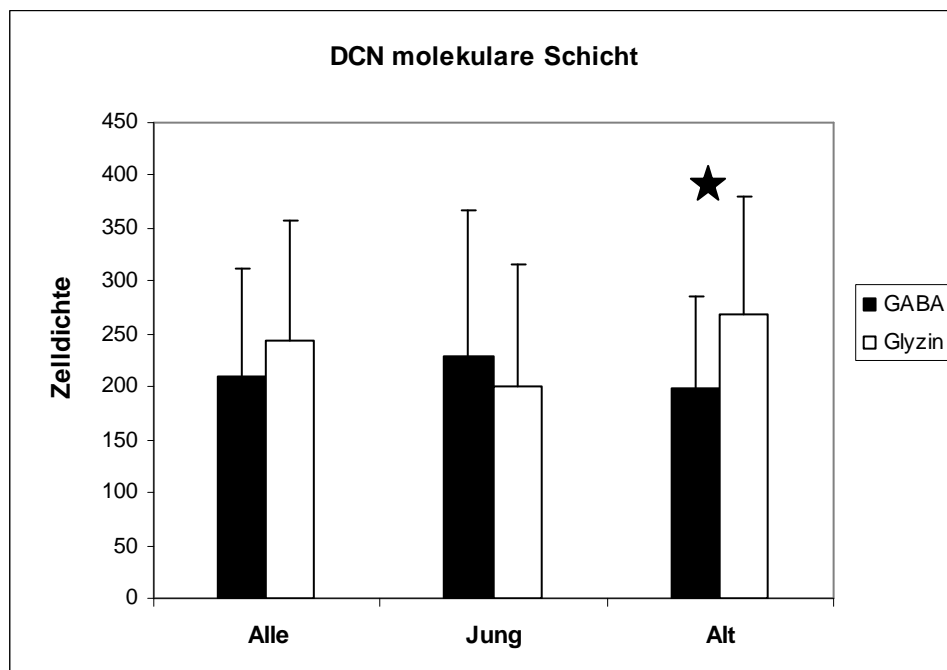


Diagr. 45: Gegenüberstellung der Dichtemittelwerte mit Standardabweichungen von GABA und Glyzin für alle Tiere ($N = 14$), alle jungen ($N = 5$) und alle alten Tiere ($N = 9$) im gesamten DCN. Die dazugehörigen Werte finden sich in Tabelle 84. (schwarzer Stern= signifikanter Dichteunterschied, $p < 0.05$)

Im Diagramm 46 sind für die molekulare Schicht des DCN die Zelldichten GABAerger und glyzinerger Neurone gegenübergestellt. Auch hier werden nur die 14 Tiere verwendet, bei denen beide Färbungen untersucht wurden. Die Werte dazu finden sich in Tabelle 84.

In der molekularen Schicht des DCN scheinen die Dichten glyzinerger Neurone auch größer zu sein als die der GABAergen Neurone. Für die alten Tiere ist der Unterschied wieder deutlicher ausgeprägt, wobei bei den jungen Tieren die Dichten GABAerger Neurone geringfügig höher sind als die Dichten glyzinerger Neurone. Der Wilcoxon-Test zeigt jedoch nur einen signifikanten Unterschied für alle alten Tiere ($p=0,021$). Die Ergebnisse des Wilcoxon-Tests für den Vergleich über alle Tiere, über alle jungen und alle alten Tiere, sind in Tabelle 83 aufgeführt.

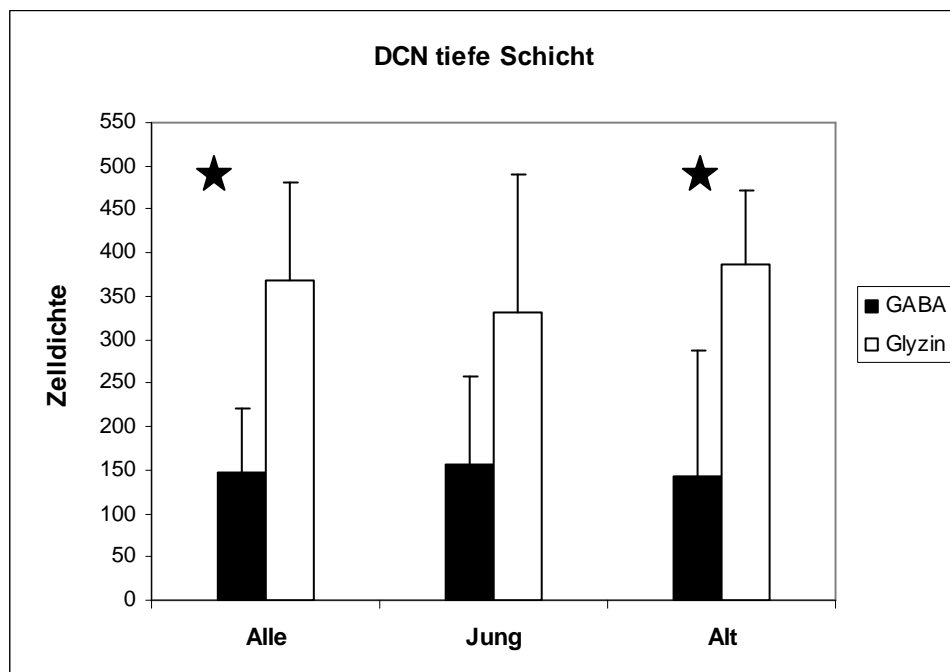
Somit gibt es in der molekularen Schicht des DCN für alle alten Tiere signifikant höhere Zelldichten glyzinerger Neurone als GABAerger.



Diagr. 46: Gegenüberstellung der Dichtemittelwerte mit Standardabweichungen von GABA und Glyzin für alle Tiere (N = 14), alle jungen (N = 5) und alle alten Tiere (N = 9) in der molekularen Schicht des DCN. Die dazugehörigen Werte finden sich in Tabelle 84. (schwarzer Stern= signifikanter Dichteunterschied, $p < 0.05$)

Für die tiefe Schicht des DCN sind in Diagramm 47 die Zelldichten GABAerger und glyzinerger Neurone gegenübergestellt. Auch hier werden nur die 14 Tiere verwendet, bei denen beide Färbungen untersucht wurden. Die Werte dazu finden sich in Tabelle 84.

Für alle Tiere unabhängig vom Alter, für alle jungen und auch für alle alten Tiere zeichnen sich die glyzinergeren Neurone im Mittel mit deutlich höheren Dichten aus als die GABAergen Neurone. Beim Vergleich über alle Tiere hinweg, zeigt der Wilcoxon-Test einen Wert von $p=0,002$. Führt man diese Analyse separat für die jungen bzw. alten Tiere durch, ergeben sich für die jungen Tiere aufgrund der geringeren Stichprobengröße von $N=5$ keine signifikanten Unterschiede. Für die alten Tiere ergibt sich ein Signifikanzwert von $p=0,008$. Somit gibt es im gesamten DCN für alle Tiere und speziell für alle alten Tiere signifikant höhere Zelldichten glyzinerger Neurone als GABAerge (vergleiche Tabelle 83).



Diagr. 47: Gegenüberstellung der Dichtemittelwerte mit Standardabweichungen von GABA und Glyzin für alle Tiere ($N = 14$), alle jungen ($N = 5$) und alle alten Tiere ($N = 9$) in der tiefen Schicht des DCN. Die dazugehörigen Werte finden sich in Tabelle 84. (schwarzer Stern= signifikanter Dichteunterschied, $p < 0.05$)

Wilcoxon-Test

GABA/Glyzin	gesamt	molekular	tief
Alle	<u>0,011</u>	0,109	<u>0,002</u>
Jung	0,500	0,893	0,138
Alt	<u>0,008</u>	<u>0,021</u>	<u>0,008</u>

Tab. 83: Statistische Auswertung über den Vergleich, ob sich die Dichten GABAerger und glyzinerger Neurone unterscheiden. Der Vergleich wird für den gesamten DCN, für die molekulare und tiefe Schicht des DCN durchgeführt. Die Tabelle listet die p-Werte. Statistisch signifikante Werte sind fett markiert und unterstrichen.

	DCN gesamt		DCN molekular		DCN tief	
	GABA	Glyzin	GABA	Glyzin	GABA	Glyzin
Alle	184,49+/- 76,57	278,76+/- 94,73	209,78+/- 102,81	243,69+/- 114,26	146,89+/- 73,43	367,71+/- 112,91
Jung	190,51+/- 110,22	241,43+/- 123,60	229,08+/- 137,24	200,44+/- 115,17	156,41+/- 101,48	332,11+/- 157,49
Alt	181,15+/- 58,47	299,49+/- 74,76	199,05+/- 86,01	267,72+/- 112,98	141,61+/- 59,36	387,49+/- 84,53

Tab. 84: Auflistung der Dichtemittelwerte und Standardabweichungen von GABAergen und glyzinerger Neuronen für alle Tiere, alle junge und alle alte Tiere für den gesamten DCN, für die molekulare und tiefe Schicht des DCN.

4.3 Zusammenfassung

Für den DCN kann festgestellt werden, dass die Anzahl glyzinerger Neurone mit den Querschnittsflächen korrelieren. Im Gegensatz dazu besteht für die GABAergen Neurone kein Zusammenhang zwischen Zellzahl und Fläche.

Das Alter hat keinen statistisch signifikanten Einfluss auf die Anzahl bzw. Dichte GABAerger bzw. glyzinerger Neurone. Ebenso unterscheiden sich die Anzahl und die Dichten der Neurone von Alt I und Alt II nicht signifikant von denen junger Tiere. Sämtliche Ergebnisse geben keinen Hinweis auf einen Verlust von inhibitorischen Neuronen (Diagramm 30) oder der Abnahme Ihrer Dichte (Diagramm 34) im DCN. Vielmehr zeigen die Daten, wenn auch nicht signifikant, eine Zunahme.

Diese Feststellung trifft auch für jeden Teilbereich des DCN so zu: Weder in der molekularen und tiefen Schichte des DCN (Diagramm 36), noch in den drei Frequenzbereichen des DCN (dorsal, mittig, ventral) (Diagramm 38) oder auch in den

6 Teilbereichen (molekular dorsal, molekular mittig, molekular ventral, tief dorsal, tief mittig, tief ventral) (Diagramme 40,42) ist ein signifikanter Einfluss des Alters auf GABAerge bzw. glyzinerge Neurone zu finden. Ebenso ist in keinem dieser Bereiche eine Abnahme der Dichten inhibitorischer Neurone zu finden. In jedem dieser genannten Teilbereiche ist eine Zunahme festzustellen, auch wenn diese in keiner dieser Stichproben signifikant war. Separate Vergleiche von jungen Tieren mit den Gruppen Alt I und Alt II wurden detailliert untersucht, aber signifikante Einflüsse des Alters zeigten sich in keinem der genannten Teilbereiche.

Es zeigte sich, dass es im gesamten DCN mehr glyzinerge als GABAerge Neurone gibt, wobei dieser Unterschied wegen der geringen Stichprobe bei jungen Tieren nicht signifikant war (Diagramm 32).

Die molekulare und tiefe Schicht des DCN unterscheiden sich in ihrem Dichtegehalt an inhibitorischen Neuronen. Die Dichte GABAerger Neurone ist in der molekularen Schicht signifikant höher als in der tiefen Schicht. Im Gegensatz dazu ist die Dichte glyzinerger Neurone in der tiefen Schicht signifikant höher als in der molekularen Schicht (Diagramm 36, Tabelle 64). Ein signifikanter Unterschied zwischen den drei Frequenzbereichen besteht weder im gesamten DCN, noch in der molekularen und tiefen Schicht des DCN (Diagramme 38, 40, 42).

Bei Vergleichen der Zelldichten GABAerger und glyzinerger Neurone im gesamten DCN gibt es signifikant höhere Werte glyzinerger Neurone. Der Unterschied erweist sich bei den jungen Tieren aufgrund der geringen Stichprobengröße als nicht signifikant (Diagramm 45).

In der molekularen Schicht weisen die Zelldichten glyzinerger Neurone höhere Werte auf, was sich allerdings nur für die alten Tiere als signifikant erweist (Diagramm 46).

Auch in der tiefen Schicht des DCN gibt es signifikant mehr glyzinerge Neurone und der Unterschied erweist sich bei den jungen Tieren aufgrund der geringen Stichprobengröße als nicht signifikant (Diagramm 47).

Ein Zusammenhang zwischen der Abnahme der AVCN- Querschnittsfläche bei den Tieren der Gruppe Alt II und einer Änderung von Zellzahl bzw. Dichte GABAerger und glyzinerger Neurone im DCN konnte nicht festgestellt werden (Ausnahme siehe Diagramme 37 und 43).

D DISKUSSION

1. Lage und Anatomie des CN

Der Nucleus Cochlearis (CN) erhält als erster Kern des Gehirns direkt Informationen aus der Cochlea. Er stellt die erste Relais-Station der aufsteigenden Hörbahn dar. Fasern des Hörnervs (N. vestibulocochlearis, 8. Hirnnerv) werden hier zum ersten Mal umgeschaltet.

Der CN liegt an der lateralen Oberfläche der Medulla (Abb. 1) und spannt eine Brücke zum Pons. Dorsal wird er durch den Kleinhirnbrückenwinkel begrenzt (Webster et al. 1992, Trettel et al. 2001). Er kann untergliedert werden in einen dorsalen (DCN) und einen ventralen (VCN) Cochleariskern. Der VCN wird durch den Eintritt des Hörnervs in einen antero-ventralen (AVCN) und einen postero-ventralen Cochleariskern (PVCN) geteilt (Katze: Osen 1969, Brawer et al. 1974, Ratte: Disterhoff et al. 1980, Meerschwein: Hackney et al. 1990, Chinchilla: Morest et al. 1990, Fleckeisen et al. 1991).

Beim Eintritt der Hörnervfasern in den VCN teilt sich jede Faser in einen aufsteigenden und einen absteigenden Ast. Der aufsteigende Ast zieht rostral zum AVCN und der absteigende kaudal zum PVCN und dann weiter zum DCN. Im DCN terminieren die Nervenfasern nur in der tiefen und der fusiformen Schicht. Jeder der drei CN-Bereiche wird tonotop innerviert. Fasern aus dem apikalen Teil der Cochlea (niedriger Frequenzbereich) teilen sich sofort nach dem Eintritt in den VCN. Sie ziehen jeweils in den ventrolateralen Bereich der CN-Kerne. Fasern, die hochfrequente Information transportieren und vom basalen Teil der Cochlea stammen, teilen sich etwas später und innervieren die dorsomedialen Anteile der drei Kerne. So wird die tonotope Anordnung der Hörnervfasern in den AVCN, PVCN und DCN übertragen (Ryugo 1992, Young und Oertel 2004).

In der Cochlea gibt es zwei verschiedenen Haarzell-Typen, die über die Hörnervfasern Information über die akustische Umwelt zum CN liefern. Hörnervfasern vom Typ I innervieren innere Haarzellen. Sie bilden den Hauptanteil (90-95%) der afferenten Fasern von der Cochlea zum CN und sind myelinisiert. Den Rest bilden Typ II-Fasern. Sie transportieren Informationen von den äußeren Haarzellen und sind unmyelinisiert. Ihre Aufgabe im Verlauf der aufsteigenden

Hörbahn ist unbekannt. Spricht man von Hörnervfasern sind im eigentlichen Sinn Typ I-Nervenfasern gemeint, die Toninformationen in die zentrale Hörbahn transportieren (Young und Oertel 2004).

2. Aufbau und Zellpopulationen von AVCN, PVCN und DCN

Der CN ist nicht eine einfache „Umschaltstation“, in der Schallinformationen aus der Cochlea über den Hörnerv in die zentrale Hörbahnen umgeschaltet werden. Die Kodierung und Verarbeitung akustischer Signale findet in allen Ebenen der zentralen Hörbahn statt. Es können bereits ab dem CN mehrere voneinander unabhängige Projektionen in höhere Kerngebiete festgestellt werden. Ferragamo (2001) gab bei der Maus 6 parallele aufsteigende Bahnen ausgehend von bestimmten Zelltypen im CN an. Über sogenannte „Prinzipalzellen“ (Ferragamo, 2001) oder „Output- Neurone“ (Frisina, 2001) gelangen Informationen in den Oberen Olivenkomplex (SOC) und Inferior Colliculus (IC). Die Funktion dieser Zellen ist unterschiedlich. Drei Eigenschaften beeinflussen den Output dieser Neurone und somit die Verarbeitung und Qualität der Schallinformation für höhere Kerngebiete (Young und Oertel, 2004). Zum einen beeinflusst der Input aus dem Hörnerv (z.B. Art und Häufigkeit synaptischer Verbindungen, Frequenzbereich) und zum anderen die spezifischen Antworteigenschaften der Prinzipalzellen (z.B. durch Ausstattung mit Rezeptoren und Ionenkanälen), wie die Information aus dem Hörnerv verarbeitet wird. Aufgrund ihrer Antwortmuster können die Neurone funktionell in unterschiedliche Klassen eingeteilt werden. Frisina und Walton (2001) unterscheiden „primarylike“, „primary-like-with-notch“, „chopper“ oder „onset units“, „pauser“, „buildup“ und „inhibitory“ Neurone. Somit werden bereits im CN akustische Signale verarbeitet. Neben zahlreichen Output-Neuronen befinden sich im CN auch Interneurone, die keine aufsteigenden Projektionen ausbilden, dafür aber einen internen Schaltkreis auf der Ebene des CN ausbilden und somit als drittes die Antworteigenschaften der Output-Neurone beeinflussen. Diese Verbindungen können exzitatorischer oder inhibitorischer Natur sein.

Im Folgenden sollen nun jeweils für die drei Unterkerne des CN die wichtigsten Output- und Interneurone in Ihrer Verteilung, Morphologie, in ihren Eingängen und Projektionen, Art synaptischer Verbindungen, ihrer Transmitter und

charakteristischen physiologischen Antworteigenschaften dargestellt werden. Projektionen der Outputneurone in andere Kerngebiete der Hörbahn sind in Abbildung 5 (Fig. 4.3 in Young und Oertel 2004, S. 128) graphisch dargestellt. Verschaltungen der Neurone innerhalb des CN werden in Abbildung 6 (Fig. 4.10 in Young und Oertel 2004, S. 144) veranschaulicht.

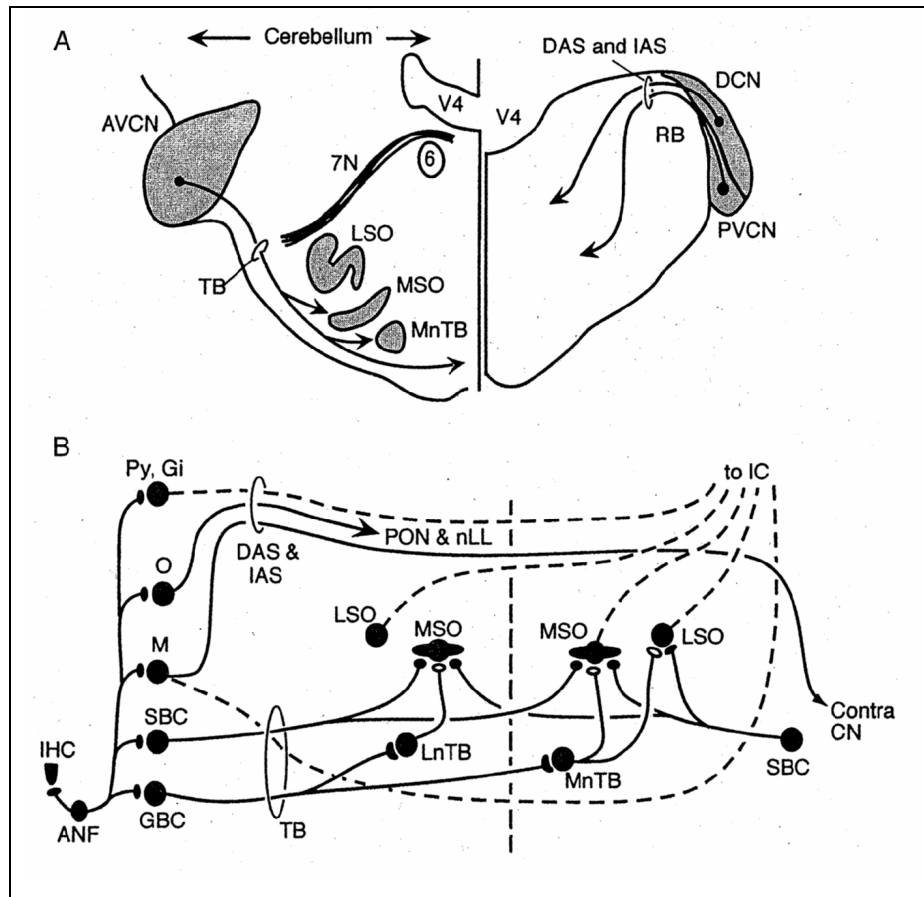


Abb. 5: Darstellung aufsteigender Projektionen von Output Neuronen des Nucleus Cochlearis in höhere Kerngebiete der Hörbahn. Entnommen aus Young und Oertel, 2004, Fig, 4.3, S. 128.

- A:** Katzenhirnstamm in einem frontalen Querschnitt. Die linke Seite zeigt eine Schnittebene auf Höhe des anteroventralen Nucleus Cochlearis (AVCN). Auf der rechten Seite ist eine Schnittebene weiter kaudal auf der Ebene des dorsalen (DCN) und posteroventralen (PVCN) Nucleus Cochlearis dargestellt. Der Hörnerv tritt zwischen den beiden Ebenen in den Nucleus Cochlearis ein. Output-Fasern ziehen vom AVCN durch den „trapezoid body“ (TB). Ausgehend vom DCN und PVCN ziehen Fasern über die „dorsal acoustic stria“ (DAS) und „intermediate acoustic stria“ (IAS) in höher gelegene Kerngebiete. Weitere Abkürzungen: Vierter Ventrikel (V4), N. abducens (6), N. facialis (7N).
- B:** Ausgehend von den inneren Haarzellen (IHC) werden Aktionspotentiale über die Hörnervfasern (ANF) vom Innenohr weiter zum Nucleus Cochlearis transportiert. Die gestrichelte senkrechte Linie trennt die linke und rechte Seite der Hörbahn. Ausgehend

von „spherical (bushy) cells“ (SBC) im VCN ziehen Fasern zum „medial superior olivary nucleus“ (MSO) der ipsi- und contralateralen Seite. Ebenso ziehen Fasern zum „lateral superior olivary nucleus“ (LSO) der ipsilateralen Seite (hier nicht eingezeichnet). „Globular (bushy) cells“ (GBC) ausgehend vom VCN ziehen zum contralateralen „medial nucleus of trapezoid body“ (MnTB), die daraufhin inhibitorisch die MSO bzw. LSO innervieren. Ebenso ziehen Fasern der GBC zum ipsilateralen „lateral nucleus of trapezoid body“ (LnTB). Neurone der LnTB wirken inhibitorisch und projizieren zur MSO. „Type I multipolar cells“ (M, gestrichelte Linie) im VCN ziehen durch den TB zum contralateralen „inferior colliculus“ (IC). „Type II multipolar cells“ (M, durchgezogene Linie) projizieren über die IAS zum contralateralen VCN und DCN. „Pyramidal cells“ (Py) and „giant cells“ (Gi) vom DCN projizieren über die DAS zum contralateralen IC. „Octopus cells“ (O) vom VCN ziehen über die IAS zum contralateralen „superior paraolivary nucleus“ (PON) und zum „ventral nucleus of the lateral lemniscus“ (nLL).

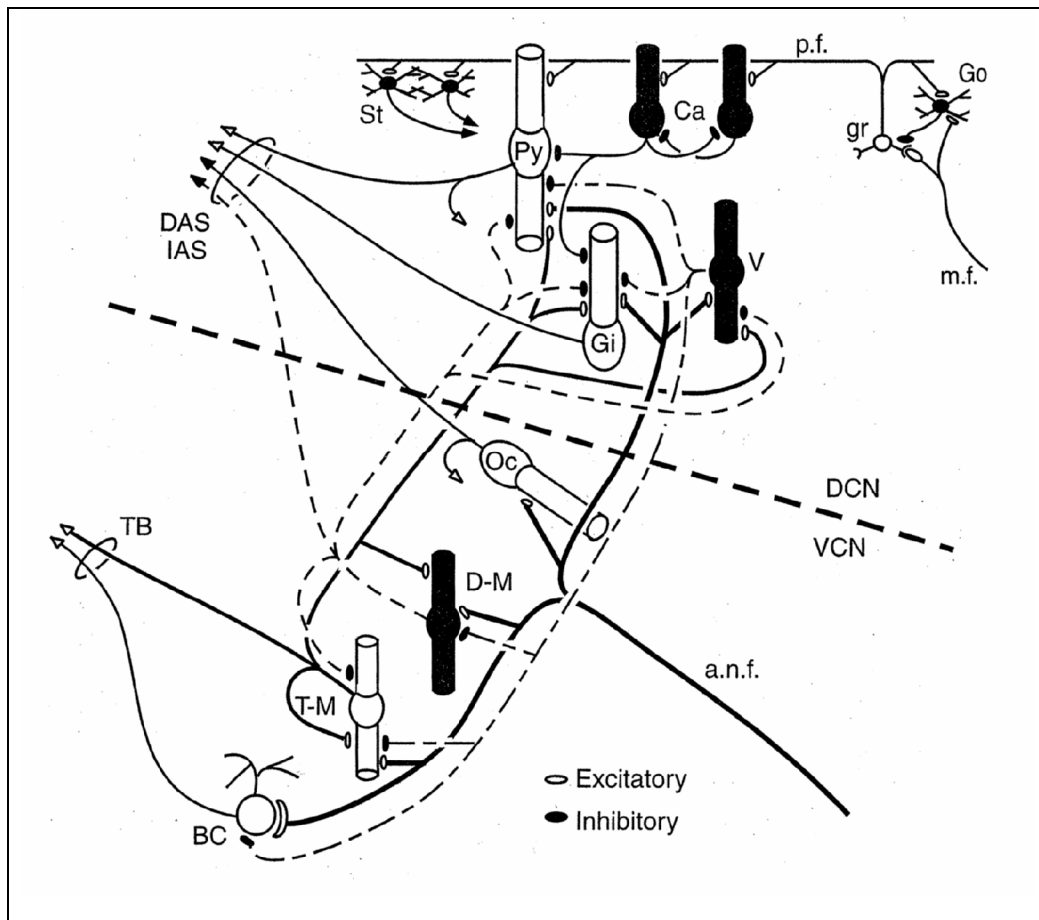


Abb. 6: Graphische Darstellung der Verschaltung der Neurone innerhalb des Nucleus Cochlearis. Entnommen aus Young und Oertel, 2004, Fig. 4.10, S. 144.

Exzitatorische Neurone und Terminalien sind weiß, inhibitorische Elemente sind schwarz dargestellt. Hörnervfasern (a.n.f.) und „mossy fibers“ (m.f.) ausgehend vom N. trigeminus liefern den Input des CN. Andere Eingänge aus höher gelegenen Kernen der Hörbahn sind nicht eingezeichnet. Die dick gestrichelte Linie trennt den VCN vom DCN. Verbindungen zur ipsilateralen Seite sind mit durchgezogenen Linien und Verbindungen zum contralateralen CN sind gestrichelt dargestellt. Die Axone der Output Neurone verlassen den CN über den „trapezoid body“ (TB) und der „dorsal (DAS) and intermediate acoustic stria“ (IAS). BC: „spherical and globular (bushy) cells“; T-M: „T-multipolar cells“, „type I multipolar cells“; D-M: „D-multipolar cells“, „type II multipolar cells“; Oc: „octopus cells“; Gi: „giant cells“; Py: „pyramidal cells“; V: „tuberculoventral cells“; Ca: „cartwheel cells“; St: „stellate cells“; gr: „granular cells“; p.f.: „parallel fibers“, Axone der „granular cells“; Go: „golgi cells“. „Tuberculoventral cells“ (V) ziehen zu sämtlichen Outputneuronen, mit Ausnahme der „octopus cells“ (O). „type I and type II multipolar cells“ (T-M, D-M) bilden intrinsische Verbindungen durch Kollaterale im VCN und DCN. „Pyramidal cells“ in der Katze (nicht in der Maus) und „octopus cells“ bilden Kollaterale zu Zellen in ihrer Nähe. Die „granular cells“ innervieren extrinsisch die „cartwheel cells“ (Ca) „pyramidal cells“ (Py) und die „stellate cells“ (St) in der molekularen Schicht des DCN.

Mittlerweile haben zahlreiche Autoren den CN mit seiner Zytoarchitektur bei vielen Spezies untersucht (Gerbil: Ostapoff et al. 1994; Chinchilla: Morest et al. 1990; Meerschwein: Hackney et al. 1990; Känguru-Ratte: Caspary et al. 1972; Maus: Trettel et al. 2001, Webster et al. 1982, Hase: Disterhoff et al. 1980, Maulwurf: Kudo et al. 1990, Schweinswal: Osen und Jansen 1965, Fledermaus: Hufeisennase: Feng und Vater 1985 und Schnurrbartfledermaus: Zook et al. 1982); darunter auch beim Rhesusaffen (Rubio et al., 2008) und dem Menschen (Moore et al. 1979, Seldon et al. 1991). Mit wenigen Ausnahmen sind die Zelltypen dieser verschiedenen Spezies miteinander vergleichbar (Cant 2003). Genauere Unterschiede, auf die hier explizit nicht eingegangen werden soll, können bei Cant (1992) nachgelesen werden. Die Beschreibung und die Nomenklatur der Zelltypen basiert auf Untersuchungen, die Osen 1969 und Brawer und Kollegen 1974 mit Abwandlungen bei der Katze durchgeführt haben.

Historisch gesehen basiert die Klassifikation der Zelltypen auf 2 unterschiedlichen Färb-Verfahren, welche unterschiedliche Charakteristika der Neurone hervorheben. Die Nissl-Färbung stellt primär die Zellkörper dar und Osen (1969) hat darauf aufbauend bei der Katze 9 Zelltypen im CN klassifiziert. Bei der Golgi-Färbung werden einige wenige Zellen in Schnitten durch Silbersalze imprägniert und so ihr Dendritenbaum dargestellt. Dies führt zu einer, von der Nissl-Färbung unabhängigen, Einteilung in unterschiedliche Zelltypen mit eigenständiger Nomenklatur (Brawer et al., 1974). Die Homologisierung von Zelltypen, die in der Golgi-Färbung charakterisiert wurden, mit Zelltypen die in der Nissl-Färbung charakterisiert wurden ist häufig nicht eindeutig möglich. Da in den immunhistochemischen Färbungen mit GABA- und Glyzin-Antikörpern der Zellkörper dargestellt werden konnte, wird hier im weiteren primär die Nomenklatur von Osen (1969) übernommen. Die folgende Beschreibung der Zelltypen mit ihren Eingängen und Projektionen basiert auf den Übersichtsarbeiten von Cant (1992), Cant (2003), Hackney et al., (1990), Oertel et al. (1990), Young und Oertel (2004), Zhang und Oertel (1993a,b,c), Saint Marie et al. (1991), Kolston et al. (1992).

AVCN

Im AVCN können in der Nisslfärbung „spherical cells“, „globular cells“ und „type I multipolar cells“ als Output-Neurone oder Prinzipalzellen bezeichnet werden. Als Interneurone sind im AVCN „type II multipolar cells“ zu finden.

Osen (1969) beschrieb bei der Katze zwei Gruppen von „spherical cells“: **Große „spherical cells“** im anterioren Pol des anterioren AVCN und **kleine „spherical cells“** im restlichen posterioren Anteil des anterioren AVCN. Große „spherical cells“ erhalten ihren exzitatorische Input von Nervenfasern aus dem apikalen Bereich der Cochlea (niedrige Frequenzen), wobei kleine „spherical cells“ Informationen aus dem gesamten Frequenzbereich der Cochlea erhalten. Die Zellkörper und proximalen Dendriten der „spherical cells“ werden durch zahlreiche synaptische Endigungen bedeckt. Die auffälligsten und für „spherical cells“ charakteristischen Endigungen entstehen über sogenannte „Endbulb of Held“, mit knospen- oder fingerartigen Endigungen. Ungefähr drei Nervenfasern innervieren eine „spherical cell“. Die Endbulbs enthalten große runde Vesikel und bilden einen kurzen somatischen Kontakt. Durch sie wird eine sichere Übertragung exzitatorischer Signale aus der Cochlea gewährleistet. Mehr als 70% der somatischen Oberfläche ist mit somatischen Terminalien bedeckt, von denen mehr als die Hälfte cochleärem Input zuzuschreiben ist. Die physiologischen Antworteigenschaften der „spherical cells“ auf Tonstimuli sind denen der Nervenfasern ähnlich, sie werden als „primary-like“ bezeichnet (Feng, 1994). Neben den Endbulbs erhalten die „spherical cells“ auch nichtcochleären inhibitorischen Input. Die synaptischen Endigungen terminieren hauptsächlich an den Dendriten, sind kleiner, mit kleinen abgeflachten oder ovalen Vesikeln. Die inhibitorischen Terminalien sind GABAerg, glyzinerg oder beides. Dieser inhibitorische Input stammt einmal von großen multipolaren glyzinerger Neuronen aus dem contralateralen AVCN und PVCN (Wentholt, 1987), von „tuberculoventral cells“ aus dem ipsilateralen DCN (Wickesberg et al., 1991; Kolston et al., 1992), von GABAergen und glyzinerger Projektionen aus dem Bereich der oberen Olive (Ostapoff et al., 1990; Benson und Potashner, 1990) und von lokalen inhibitorischen Interneuronen. Große „spherical cells“ liefern exzitatorische Informationen zum lateralen Teil der ipsilateralen medialen oberen Olive (MSO), dem medialen Teil der kontralateralen MSO und zur ipsilateralen lateralen oberen Olive (LSO). (Cant, 1991, 1992, 2003). Da die MSO binaurale Laufzeitunterschiede

verarbeitet und somit zum Richtungshören beiträgt, nehmen die großen „spherical cells“ mit Ihren bilateralen Projektionen, eine wichtige Funktion im präzisen Weitertransport zeitlicher Schallinformationen aus der Cochlea ein. Kleine „spherical cells“ projizieren zur ipsilateralen LSO (Cant, 1991,1992, 2003).

„**Globular cells**“ erhalten Input von mehreren Nervenfasern (4-40), die exzitatorischen Endigungen der Endbulbs sind kleiner als die der „spherical cells“ und enthalten große runde Vesikel. An die 40% der Terminalien scheinen nicht cochlearen Ursprungs zu sein und besitzen pleomorphe oder abgeflachte Vesikel. Dieser Input scheint inhibitorisch mit GABA, Glyzin oder beiden als Transmitter und vergleichbar dem der „spherical cells“. Die physiologischen Antworteigenschaften dieser Zellen werden als „primary-like-with notch“ bezeichnet. „Globular cells“ projizieren exzitatorisch zum kontralateralen medialen Trapezkörper (MNTB), der glyzinerg zur LSO und MSO projiziert. Die Axone der „globular cells“ sind groß und stark myelinisiert und liefern einen schnellen Transport der Information aus der Cochlea zu Zielzellen. Zusammen mit den kleinen „spherical cells“ nehmen die „globular cells“ an der Verarbeitung binauraler Stimuli in der oberen Olive teil (Cant, 1991,1992, 2003).

Eine wichtige heterogene Zellgruppe im VCN sind die „multipolar cells“, eine Zellpopulation verschiedenartiger Zellen, die Ihren Namen anhand ihres Erscheinungsbildes in der Golgifärbung erhalten hat. Unter diese Gruppe fallen viele Zellen, die sich dennoch in ihren morphologischen, synaptischen, physiologischen und funktionellen Eigenschaften unterscheiden. Im VCN können zwei funktionell verschiedene Zellpopulationen an „multipolar cells“ unterschieden werden. Cant (2003) fasst unter „**type I multipolar cells**“ die „T-stellate cells“, die Oertel 1990 bei der Maus und die „planar cells“, die Doucet 1997 bei der Ratte beschrieben haben, zusammen. Außerdem zählt sie eine der großen „multipolar cells“, die Smith und Rhode (1989) bei der Katze als „circuit-chopper“ im anterioren PVCN bezeichneten und die „type I stellate cells“ im anterioren AVCN bei der Katze (Cant, 1981), dazu. „Type I multipolar cells“ des AVCN werden zu den Prinzipalzellen gezählt. Anzufinden sind sie auf der gesamten rostrokaudalen Länge des VCN, somit auch im PVCN. Ihre Dendriten sind in mediolateraler Richtung ausgerichtet, also parallel zu den einstrahlenden Nervenfasern und werden daher nur von einem begrenzten Frequenzbereich innerviert (narrow tuned, Doucet, 1997, 1999). Exzitatorische Eingänge vom Hörnerv erhalten die „type I multipolar cells“ über kleine Boutons an

den Dendriten, wobei weit mehr inhibitorische (GABA, Glyzin oder beides) Eingänge bestehen. Eingänge an den Somata sind wenige vorhanden. Oertel et al. (1990) fanden bei der Maus im rostralen PVCN gegenseitige exzitatorische Verbindungen innerhalb isofrequenter Bereiche. „Type I multipolar cells“ sind exzitatorisch und bilden die Hauptprojektion zum kontralateralen Inferior Colliculus (IC), ihre Axone ziehen über den Trapezkörper zu ihren Zielzellen. Daneben ziehen Kollaterale zum DCN und kontaktieren neben „tuberculoventral cells“, die beiden Prinzipalzellen des DCN, die „fusiform cells“ und „giant cells“ (Young und Oertel 2004). Doucet et al. (1997) stellte bei seinen Tracerstudien fest, dass die Projektionen topographisch verlaufen. „Type I multipolar cells“ terminieren im DCN in dem gleichen Frequenzbereich, der ihrer besten Frequenz entspricht. Wenige „multipolar cells“ innervieren auch den ipsilateralen IC. Diese Axone verlaufen im lateralen Trapezkörper. Die Funktion dieser Hörbahnen ist noch nicht ganz verstanden (Cant, 2003).

Als zweites sind im VCN die inhibitorischen „**type II multipolar cells**“ zu nennen. Sie sind weniger stark verbreitet, dafür sind sie größer als „type I multipolar cells“. Unter ihnen sind die „D-stellate cells“ bei der Maus (Oertel, 1990), die „radiate cells“ bei der Ratte (Doucet, 1997), die „onset-chopper“ (Smith und Rhode, 1989) und die „type II multipolar cells“ bei der Katze (Cant, 1981) einzuordnen (Cant 2003). Soma und proximale Dendriten werden stark von cochleären und nicht cochleären Endigungen bedeckt. Ihre Dendriten verlaufen in dorsoventraler Richtung und strahlen senkrecht in die tonotop einlaufenden Nervenfasern ein. Sie erhalten somit Input über einen weiten Frequenzbereich und sind „broadly tuned“ und können somit als Breitbandhemmer fungieren (Doucet, 1997, 1999). Sie selbst antworten gut auf Geräuschstimuli, weniger gut auf Tonstimuli. Ihre Axone ziehen über die „intermediate acoustic stria“ zum kontralateralen VCN und DCN. Cant zeigte 1982 durch anterograde und retrograde Traceruntersuchungen, dass die Zielzellen bei kontralateraler Projektion, hauptsächlich Prinzipalzellen („spherical“ und „globular cells“) im anterioren AVCN und rostralen PVCN sind. Im DCN liegen die Zielzellen in der molekularen und fusiformen Schicht. Daneben ziehen Kollaterale zu benachbarten „type I multipolar cells“ und dem ipsilateralen DCN, wobei sie hier die Prinzipalzellen („fusiform“ und „giant cells“) und die „tuberculoventral cells“ innervieren. „Type II multipolar cells“ beeinflussen den gesamten CN inhibitorisch. Die Projektionen der „type II multipolar cells“ sind schematisch in Abbildung 5

dargestellt. (Übersicht in Cant 2003 und Young und Oertel 2004). Die „type II multipolar cells“ sind inhibitorisch und vermutlich glyzinerg, da sie relativ groß sind.

Zusätzlich zu den großen inhibitorischen Neuronen im AVCN wurden nach immunhistochemischer Färbung eine geringe Anzahl relativ kleiner Neurone beschrieben die GABA, Glyzin oder beide Transmitter exprimieren (Kolston et al., 1992, Gleich und Vater, 1998) und vermutlich lokale Interneurone darstellen.

PVCN

Neben den „multipolar cells“ befinden sich im kaudalen Pol des PVCN fast ausnahmslos „**octopus cells**“ (Osen, 1969). Ihre Zahl ist nicht groß. Ihre langen geraden Dendriten liegen wie die eines Oktopus auf einer Seite des Zellkörpers und senkrecht zu den einstrahlenden Hörnervenfaser (in diesem Bereich sind die Nervenfasern stark gebündelt). Über kleine Boutons terminieren bei der Maus an die 100 bis 200 Nervenfasern an proximalen Dendriten und am Zellkörper (Oertel, 1997). Somit erhalten die „octopus cells“ ihren Input von einem großen Frequenzbereich (broadly-tuned) (Osen, 1969; Oertel, 1990). An die 50% der Somaoberfläche und 70% der Dendriten ist mit solchen Endigungen besetzt. Inhibitorische Terminalien sind relativ wenige zu finden. Kleine GAD-positive („gentamic acid decarboxylase“) Endigungen mit kleinen ovalen Vesikeln verteilen sich regelmäßig über Soma und Dendriten (Cant 1992), was auf GABA als Neurotransmitter hindeutet (Cant 2003). GAD ist ein Enzym, das GABA synthetisiert. Daneben gibt es synaptische Endigungen mit kleinen flachen oder spherischen Vesikeln. Vermeintlich ist dies ein Eingang von glyzinerger „giant cells“ aus der tiefen Schicht des kontralateralen DCN, deren Terminationsgebiet die Oktopusregion im PVCN zugeschrieben wird (Cant 1982). Daneben werden auch inhibitorische Eingänge aus den ipsilateralen periolivären Kernen vermutet (Cant 1992). Ostapoff (1994) beschreibt beim Gerbil den Zellkörper als schildförmig, besetzt mit Dornen und zwei bis drei dicken kandelaberartigen Dendriten, die zum Teil Kollaterale bilden. Oertel (1990) konnte bei der Maus diese dornartigen Fortsätze nicht feststellen. Die Axone der „octopus cells“ projizieren über kleine Endbulbs über die mittlere akustische Stria (IAC) zum kaudalen Teil des kontralateralen ventralen Kern des lateralen Lemniscus (VNLL)

(Ferragmo und Oertel, 2001; Cant, 2003). Verbindungen zum oberen paraolivären Kern (SPL) bei der Ratte und beim Meerschwein, sowie Projektionen zum dorsomedialen periolivären Kern (DMPO) bei der Katze wurden beobachtet (Cant 2003). Daneben bilden sie Axon Kollaterale aus, die lokal terminieren (Young und Oertel 2004). „Octopus cells“ synchronisieren viele gleichzeitig eintreffende Tonimpulse unterschiedlicher Frequenzen und benötigen eine große Menge synchroner Aktionspotentiale aus dem Hörnerv, um aktiv zu werden. Zudem antworten sie auf Tonimpulse direkt nach Beginn des Reizes, was ihre physiologische Antworteigenschaft als „onset“ bezeichnet (Rhode, 1983; Ostapoff, 1994; Feng, 1994; Oertel, 1997). Auch bei wiederholten Reizen und maximaler Feuerrate der Hörnerven bleiben ihre Antworten stabil und zeitlich genau mit dem Reiz synchron. Sie reagieren gut auf kurze und regelmäßige Reize. Diese Eigenschaften machen sie geeignet für das Codieren von kurzen Ton- oder Lautheitsschwankungen (Oertel, 1997, 1999; Young und Oertel 2004, Cant, 2003). Die „octopus cells“ sind neben den „typ I multipolar cells“ die Prinzipalzellen im PVCN.

DCN

Der DCN besitzt eine komplexe Struktur mit unterschiedlichen Neuronentypen. Neben zwei Outputneuronen bildet der DCN durch seine Interneurone ein stark verzweigtes bilaterales Netzwerk hemmender und erregender Verbindungen innerhalb des CN aus.

Der DCN besteht aus drei Schichten. Die äußerste, **molekulare Schicht** ist relativ zellarm mit „granular cells“, einigen „cartwheel cells“ und „stellate cells“. In ihr laufen die parallel Fasern (Axone von „granular cells“). Darunter liegt die **fusiforme Schicht**. Sie ist definiert durch eine Reihe „fusiform cells“, die die größte Zellpopulation an Prinzipalzellen im DCN bildet. Dazwischen mischen sich noch „granular“ und „cartwheel cells“. Die unterste Schicht bildet die **tiefe Schicht**. In ihr liegen die Somata der „giant cells“, die zweiten Prinzipalzellen des DCN und die „tuberculoventral cells“.

Beim Menschen ist der DCN vergleichsweise groß, eine Dreischichtung kann wie auch bei anderen Primaten nicht erkannt werden (Cant 1992, Trettel et al. 2001).

Allerdings wurde in einer aktuellen Studie von Rubio et al. (2008) die molekulare Schicht im DCN von Rhesusaffen mittels immunhistochemischer und elektronenmikroskopischer Untersuchungen identifiziert. Sie konnten zeigen, dass die grundsätzliche Verschaltung in der molekularen Schicht bei Primaten der von nicht-Primaten entspricht, auch wenn die Schichtung in der Nissl-Färbung nicht erkennbar ist.

„**Fusiform cells**“ sind bipolar, wobei ihre Dendriten in dorsoventraler Richtung ausgerichtet sind. Somit erhält der basale Dendritenbaum, der in die tiefe Schicht des DCN reicht, exzitatorischen Input aus den Hörnervfasern. Der apikale Zweig, besetzt mit zahlreichen Dornen, reicht in die molekulare Schicht, wo die „fusiform cells“ ebenfalls exzitatorischen Input von Parallelfasern erhalten. Daneben erhalten die „fusiform cells“ zahlreiche inhibitorische Eingänge. Ihre Axone terminieren exzitatorisch über die dorsale akustische Stria (DAS) im kontralateralen IC und/oder im VNLL, (Smith und Rhode 1985, Oertel und Wu 1989). Außer bei der Katze bilden die Axone beim Gerbil, beim Meerschwein und bei der Maus keine Kollaterale aus (Ding 1999). Das physiologische Antwortmuster der „fusiform cells“ ist sehr komplex. Smith und Rhode zeigten bereits 1985 bei der Katze, dass in Abhängigkeit verschiedener Schallparameter (Frequenz, Intensität und Dauer) „fusiform cells“ mehrere unterschiedliche Antwortmuster (pauser, buildup und chopper) aufweisen können und führt dies auf den hohen Level exzitatorischer und inhibitorischer Einflüsse zurück. Auch beim Gerbil kamen Ding et al. (1999) zu ähnlichen Schlüssen. Die „**giant cells**“ bilden die zweiten Prinzipalzellen und liegen in der tiefen Schicht des DCN. Ihr Zellsoma ist relativ groß. Beim Gerbil liegt der Durchmesser bei mehr als 25 µm (Ding 1999). Durch ihr großes dendritisches Feld erhalten sie auditorische Eingänge über einen weiten Frequenzbereich. Daneben erhalten die „giant cells“ exzitatorische Eingänge von den „type I multipolar cells“ aus dem kontralateralen VCN oder den „granular cells“ (Oertel und Wu 1990, Zhang und Oertel 1993c). Sämtliche inhibitorischen Eingänge auf die „giant cells“ sind glyzinerg. Zhang und Oertel (1993c) konnten nach vorheriger Strychninapplikation nachweisen, dass das IPSP (inhibitory postsynaptic potential) geblockt werden konnte. Inhibitorischen Input erhalten die „giant cells“ von den „tuberculoventral cells“ und den „type II multipolar cells“ des VCN (Zhang und Oertel 1993c). Die Axone eines Teils der „giant cells“ projizieren exzitatorisch wie die „fusiform cells“ über die DAS zum kontralateralen IC. Daneben gibt es auch glyzinerge „giant cells“ (Kolston et al., 1992, SaintMarie et al.,

1991) die zum kontralateralen PVCN projizieren (Cant 1982). Alibardi (2000d) beschreibt jedoch bei der Ratte „giant cells“, die in den kontralateralen CN projizieren und kein Glyzin als Transmitter verwenden. Das Antwortverhalten der „giant cells“ wird in die Kategorie Typ IV-units (die Spontanaktivität wird durch akustische Reize reduziert) eingeteilt. „Giant cells“ werden über einen weiten Frequenz- und Pegelbereich stark inhibiert (Joris et al. 1992). Über das genaue physiologische Antwortmuster der unterschiedlichen „giant cells“ (mit oder ohne Glyzinexpression) ist jedoch noch wenig bekannt (Ding et al. 1999).

Ebenfalls in der tiefen Schicht des DCN befinden sich die „**tuberculoventral cells**“. Ihre Dendriten und Axone umspannen immer nur einen isofrequenten Bereich. Sie sind Interneurone und projizieren nur innerhalb des CN. „Tuberculoventral cells“ erhalten zwei exzitatorische Eingänge. Zum einen werden sie direkt vom Hörnerv innerviert und zum anderen über disynaptische Verbindungen durch „type I multipolar cells“ aus dem VCN (Zhang und Oertel 1993b). Zhang und Oertel (1993b) stellen neben zwei erregenden Eingängen ein sehr schwaches IPSP fest. Die Zellsomata und die proximalen Dendriten sind von wenigen GABAergen und/oder glyzinergen Endigungen besetzt. Zhang und Oertel (1993b) vermuten „stellate cells“ und „D-stellate cells“ (entsprechen „type II multipolar cells“) aus dem VCN als inhibitorische Quelle. Die „tuberculoventral cells“ selbst sind hemmende, glyzinerge Interneurone (Wickesberger 1994). Zusätzlich existieren im tiefen DCN bei Gerbil (Gleich und Vater, 1998) und Meerschweinchen (Kolston et al., 1992) GABAerge Zellen, die entweder auch zu den „tuberculoventral cells“ gehören, oder einem separaten Zelltyp angehören (Saint Marie et al., 1991). Lokale Axone terminieren mit angrenzenden Zellkörpern und Dendriten in der tiefen Schicht. Zhang und Oertel (1993b) vermuten darunter „giant cells“ und „fusiform cells“. Lange Axone projizieren in den AVCN und rostralen PVCN und inhibieren „spherical“, „globular“ und „multipolar cells“ (Wickesberg et al. 1990, Cant 1982). Laut Wickesberg et al. (1991) bestehen keine Verbindungen zu „octopus cells“. Die Tatsache, dass die „tuberculoventral cells“ und ihre Zielzellen im VCN von der selben Gruppe von Nervenfasern innerviert werden und die Tatsache, dass sie topographisch in den VCN projizieren, bedingt eine hemmende Rückkopplung der Zielzellen im VCN (Wickesberg 1988). Da dieser Input über den „Umweg“ der „tuberculoventral cells“ im DCN läuft, trifft er erst nach einer synaptischen Verzögerung von 600µsec in den „spherical“, „globular“ und „multipolar cells“ im VCN ein und bewirkt dort eine verzögertes IPSP. Diese verzögerte

frequenzspezifische Hemmung der „tuberculoventral cells“ trägt zur monauralen Echounterdrückung bei (Wickesberg 1990).

„**Cartwheel cells**“ sind lokale Interneurone in der molekularen und fusiformen Zellschicht und zahlenmäßig im DCN am stärksten vertreten. Sie sind vermehrt am Übergang molekularer zu fusiformer Schicht anzufinden. Alle Dendriten erstrecken sich in die molekulare Schicht und sind dicht besetzt mit kleinen Fortsätzen. Dort werden sie exzitatorisch von den „parallel fibers“ (Axone der „granular cells“) innerviert (Ferragamo und Oertel 2001, Young und Oertel 2004). Direkten cochleären Input auf die „cartwheel cells“ schließen Zhang und Oertel (1993a) aus. Sie selbst wirken lokal als inhibitorische Interneurone. Zahlreiche Studien belegen, dass „cartwheel cells“ GABA und/oder Glyzin als Transmitter verwenden (Mugnaini 1885, Wenthold 1986, 1987, Osen 1990, St. Marie 1991, Kolston 1992, Wickesberg 1994). Zielzellen sind „fusiform cells“, andere „cartwheel cells“ und „giant cells“ im gleichseitigen DCN, aber keine „stellate“ und „tuberculoventral cells“ (Ferragamo und Oertel 2001, Young und Oertel 2004). Dadurch, dass die „cartwheel cells“ nicht durch den Hörnerv innerviert werden, ist ihr Antwortverhalten auf akustische Reize sehr schwach (Ding et al. 1999). Schwache Depolarisationen rufen bei „cartwheel cells“ einen „burst“ von Aktionspotentialen hervor, was sie im gesamten CN in ihrem Antwortverhalten einzigartig macht (Ferragamo und Oertel 2001). Beim Menschen sind in Nissl- gefärbten Schnitten keine „cartwheel cells“ vorzufinden (Cant 1992). Aber die Ergebnisse von Ryugo et al. (1995) und Rubio et al. (2008) weisen mittels spezieller Immunfärbung darauf hin, dass bei Primaten und dem Mensch doch „cartwheel cells“ existieren.

„**Stellate cells**“ sind ebenso wie die „cartwheel cells“ lokale Interneurone. Sie sind in der molekularen und oberen fusiformen Schicht anzutreffen und sind etwas kleiner als „cartwheel cells“. Ihren Eingang erhalten sie exzitatorisch von den „parallel fibers“ und inhibitorisch von „cartwheel cells“ (Zhang und Oertel 1993a). „Stellate cells“ verwenden GABA als Transmitter (Mugnaini et al., 1985; Wenthold et al., 1984; Osen et al., 1990; und Kolston et al., 1992). Laut Osen et al. (1990) sollen sie hemmend auf „cartwheel“ und „fusiform cells“ wirken.

„**Granular cells**“ sind kleine Neurone, die in Domänen rund um den VCN und DCN angeordnet sind. Vereinzelt liegen sie in den beiden äußeren Schichten des DCN und im VCN (Oertel und Wu 1989). Ihre Axone, die parallel Fasern liefern den „cartwheel cells“ exzitatorischen Input. „Granular cell“ erhalten somato-sensorischen

Input von großen „mossy fibers“ des Nucleus spinalis nervi trigemini (Cant 1992, Young und Oertel 2004; Zhou und Shore, 2004). Sie wirken exzitatorisch und verwenden Glutamat als Transmitter (Zhang und Oertel 1993a).

Neben diesen Zelltypen wurden im DCN noch die „Golgi cells“, „unipolare brush cells“ und „chestnut cells“ beschrieben. „**Golgi cells**“ sind inhibitorische Interneurone, die eine Art Vorwärts- und Rückwärtskopplung für die „granular cells“ bilden und sowohl GABA und Glyzin als Transmitter verwenden. „**Unipolare brush cells**“ und „**chestnut cells**“ sind exzitatorische Interneurone in den beiden oberen Schichten des DCN (Young und Oertel 2004).

3. Verteilung der inhibitorischen Transmitter GABA und Glyzin im AVCN, PVCN und DCN

Der folgende Abschnitt soll einen Überblick über die Verteilung der GABA- und glyzinexprimierenden Neurone im CN geben und einen Vergleich zu den Ergebnissen dieser Arbeit liefern.

AVCN und PVCN

Gleich und Vater (1998) fanden beim Gerbil im VCN kleine (11µm) GABAerge Neurone, die sich im AVCN und PVCN verteilten. Daneben existierten eine ähnliche Menge glyzinerger kleiner Neurone. Gleich und Vater (1998) vermuten, wie Kolston et al. (1992), bei diesen Zellen eine Co-Expression beider Transmitter. Daneben gibt es wenige große Neurone (15-31µm), die nur Glyzin exprimieren. Sie werden zu den „Comissural“ Neuronen gezählt, die zum kontralateralen CN projizieren (Wentholt et al., 1986, Kolston et al., 1992). In mehreren Arbeiten wurde von einer geringen Anzahl GABAerger Neuronen im VCN berichtet (Wentholt et al., 1986, 1990, Mugnaini et al., 1985, Kolston et al., 1992).

Dies ist nicht kongruent mit den Ergebnissen dieser Arbeit beim Gerbil. Obwohl die Unterschiede nicht signifikant sind, gibt es in der vorliegenden Arbeit Hinweise, dass im AVCN und PVCN die GABAergen Neurone eine höhere Zellzahl aufweisen als die glyzinerger (Diagramm 8, Tabelle 11 und Diagramm 19, Tabelle 31).

Roberts und Ribak (1987) untersuchten mittels GAD-Antikörpern die Verteilung GABAerger Neurone im CN des Gerbils und berichteten von einer regelmäßigen Verteilung GAD-positiver Somata im AVCN in mediolateraler und rostrokaudaler Richtung. Sie fanden relativ schwach gefärbte große GAD-positive Somata in der dorsalen Region des AVCN und PVCN und reichlich stärker GAD-positive Neurone in den ventralen Polen von AVCN und PVCN.

Dies stimmt mit den Befunden dieser Arbeit insofern überein, dass die Dichte GABAerger Neurone im ventralen Bereich des PVCN im Vergleich zur dorsalen „Oktopuszellregion“ signifikant erhöht war (Diagramm 23, Tabelle 42). Die Dichte GABAerger Neurone im AVCN erschien im dorsalen und ventralen Bereich im Vergleich zum mittigen Teil erhöht (Diagramm 12, Tabelle 22), auch wenn sich in dieser Arbeit kein signifikanter Unterschied zwischen ventralen, mittigen und dorsalen Bereich des AVCN zeigte.

DCN

Die meisten GABAergen Neurone beim Gerbil sind in der molekularen und fusiformen Zellschicht des DCN anzufinden (Roberts und Ribak, 1987, Gleich und Vater, 1998). Fast alle kleinen bis mittleren Zellen mit einem Längsdurchmesser von 13µm zeigten durch GABA-Antikörper eine starke Farbreaktion (Gleich und Vater, 1998). In der tiefen Schicht des DCN färbten sich nur wenige Zellen mit dem Antikörper. Ihr Längsdurchmesser lag bei 10µm. Glyzinerge Neurone sind in allen drei Schichten des DCN verteilt, wobei eine große Mengen kleiner glyzinerger Neurone in der tiefen Schicht aufgefunden wurde. Diese Beobachtungen stehen in Übereinstimmung mit den Untersuchungen, die Kolston et al. (1992) beim Meerschwein gemacht haben: In der obersten, molekularen Schicht liegen die „stellate cells“ als rein GABAerge Neurone. Nur wenige sind schwach mit Glyzin-Antikörper anfärbbar. In der molekularen und fusiformen Schicht liegen die gleichzeitig stark für Glyzin und schwach für GABA anfärbbaren „cartwheel cells“ und die gleichzeitig stark für GABA und schwach für Glyzin anfärbbaren „golgi cells“. Osen (1990) berichtet bei der Katze, dass in den beiden äußeren Schichten annähernd 100% der kleinen bis mittleren Zellen immunoreaktiv waren, wobei 90% Doppelfärbung zeigten und die verbleibenden 10% nur für GABA anfärbbar waren.

Im Rahmen dieser Arbeit kann keine Aussage über Doppelfärbungen getroffen werden. In den beiden oberen Zellschichten (hier wurden wegen der schwierigen Abgrenzung fusiforme und molekulare Zellschicht zusammengefasst und in der Analyse nur als molekulare Schicht bezeichnet), zeigte sich eine höhere Dichte glyzinerger als GABAerger Neurone. Dieser Unterschied erwies sich für alte Tiere sogar als Signifikant (Diagramm 46).

Die Beobachtungen in dieser Arbeit sind mit den Ergebnissen genannter Autoren insofern kongruent, dass die Dichte GABAerger Neurone in der molekularen Schicht signifikant höher als in der tiefen Schicht war (Diagramm 36, Tabelle 64).

In der tiefen Schicht finden Kolston et al. (1992) unter den immunreaktiven Neuronen hauptsächlich nur glyzinerge „tuberculoventral cells“. Ihre Zellgröße liegt im Bereich der „cartwheel cells“, wobei auch einige an die Größe der „giant cells“ (12-30µm) heranreichen. Wenige der glyzinerger Zellen sind auch leicht für GABA anfärbbar. Gelegentlich fanden sie auch rein GABAerge Neurone in der tiefen Schicht. Gleich und Vater (1998) zählen beide Färbungen in der tiefen Schicht zu den „tuberculoventral cells“, wobei sie vermuten, dass die GABAergen Neurone zumindest teilweise einem anderen Zelltyp angehören könnten. Kolston et al. (1992) setzt das Verhältnis der rein mit Glyzin- Antikörper anfärbbaren „tuberculoventral cells“ zu doppelfärbbaren „tuberculoventral cells“ auf 9:1 fest. Saint Marie et al. (1991) zeigt, dass von allen Neuronen, die in den kontralateralen VCN projizieren 96% glyzinerger und nur 3% GABAerg sind. Auch Wenthold et al (1986) weist beim Meerschwein auf wenige GABAerge Neurone in der tiefen Schicht des DCN hin.

In dieser Arbeit wurde nicht untersucht, ob manche Neurone für beide Antikörper anfärbbar sind, es zeigte sich aber dennoch übereinstimmend mit obigen Arbeiten, dass in der tiefen Schicht des DCN glyzinerger Neurone vorherrschen (Diagramm 47). In der tiefen Schicht übertrifft eindeutig die Menge der glyzinerger Neurone die der GABAergen. Dieser Unterschied ist bei den jungen Tieren nicht signifikant, was vermutlich auf die geringe Stichprobengröße in dieser Gruppe zurückzuführen ist (Tabelle 83). Das vermehrte Vorkommen glyzinerger Neurone in der tiefen Schicht des DCN spiegelt sich auch im Vergleich der Zelldichten glyzinerger Neurone zwischen molekularer und tiefer Schicht wieder. Hier ergaben sich in der tiefen Schicht signifikant höhere Zelldichten glyzinerger Neurone als in der molekularen Schicht (Diagramm 36, Tabelle 64).

4. Warum wird das inhibitorisch System untersucht? - Funktion der inhibitorischen Transmitter GABA und Glyzin im CN

Wie oben dargestellt, transportieren Prinzipalzellen akustische Information zur weiteren Verarbeitung in höhere Kerngebiete der Hörbahn. Dabei nehmen Interneurone Einfluß auf die „Qualität“ der weitertransportierten Information. Wie stark dieser Einfluß und wie wichtig die Wirkung hemmender Interneurone mit ihren Transmittern GABA und Glyzin für eine optimale akustische Verarbeitung sind, soll im Folgenden dargestellt werden.

Allein die Tatsache, dass bereits durch die „type II multipolar cells“ im VCN eine binaurale Verschaltung hemmender Neurone im CN besteht und die Komplexität der inhibitorischen Verbindungen (wie aus Abbildung 6 nochmals deutlich wird) zeugen von der Wichtigkeit hemmender Interneurone und ihrer Transmitter GABA und Glyzin im ersten Kern der aufsteigenden Hörbahn.

Bereits 1987 fanden Caspary et al. heraus, dass Glyzin für die nicht-monotone Antworteigenschaft von „fusiform cells“ im DCN bei verschiedenen Lautstärken bei einer charakteristischen Frequenz verantwortlich ist. Gerade bei hohen Lautstärken wird die Antwort gehemmt. Strychnin, ein Glyzin-Antagonist, ändert die Form der Frequenz-Intensitäts-Funktionskurve von „fusiform cells“ in eine monotone Form. Caspary et al. schlossen daraus, dass Glyzin für die „Natur“ des Outputs von „fusiform cells“ verantwortlich sei. Ebert und Ostwald (1995) folgerten, dass glyzinerger Input auf „fusiform cells“ die Antwort bei lauten Tönen reduziert.

Wie von Wickesberg (1990) beschrieben und bereits im ersten Teil der Diskussion dargestellt, tragen die „tuberculoventral cells“ in der tiefen Schicht des DCN zu einer verzögerten frequenzspezifischen, vornehmlich glyzinerger (Gleich und Vater, 1998, Kolston et al., 1992) Hemmung ihrer Zielzellen im VCN bei. Dabei dienen inhibitorische Neurone zur monauralen Echounterdrückung bereits auf der Ebene des CN.

Für die physiologische Wirkungsweise von GABA im VCN fanden Ebert und Ostwald (1995) durch iontophoretische Gabe von GABA und Einzelzellableitungen an Neuronen mit vier verschiedener Antworttypen eine starke Hemmung der Spontanaktivität und gleichzeitig eine geringe Hemmung tonevozierter Aktivität. Weiter fanden sie heraus, dass bei Maskierung des Testtones durch ein Hintergrundgeräusch GABA die Entladung der geräuschevozierten Potentiale mehr

als die tonevozierten Potentiale hemmt. GABA als Transmitter verbessert somit das Signal-Rauschverhältnis zwischen zeitlich stark modulierten akustischen Signalen und mehr oder weniger kontinuierlichem Hintergrundrauschen und führt somit zur besseren Übertragung akustisch relevanter Signale im Umgebungsgeräusch. Auch Caspary et al. kam 1994 zu ähnlichen Ergebnissen.

Durch Tests mit gepaarten Klick-Reizen konnten Backoff et al. 1997 aufzeigen, dass die meisten CN Neurone eine Antwortunterdrückung auf den zweiten Klick, in Abhängigkeit des zeitlich zwischen beiden Klicks liegenden Intervalls, aufweisen. Vor allem bei sehr kurzen Zeitintervallen zwischen den Klicks zeigte sich dieses so genannte Phänomen der „short-term response suppression“. Durch Einzelzelleableitungen und Blockade von GABA- und Glyzinrezeptoren durch iontophoretische Applikation von Bicuculline und Strychnin verkürzte sich die Erholungszeit des auf den zweiten Klick folgenden Aktionspotentials bei zwei Drittel der getesteten Neuronen. Durch Applikation von GABA- und Glyzin- Antagonisten konnte so ein Einfluss der inhibitorischen Transmitter GABA und Glyzin auf diesen Effekt nachgewiesen werden. Dagegen verlängern sich die Erholungszeiten der Aktionspotentiale nach dem 2. Klick bei Gabe von GABA bzw. Glyzin, was die Wichtigkeit des inhibitorischen Systems im CN in der Fähigkeit zeitliche Eigenschaften zu verarbeiten bestätigt. Ebenfalls trägt diese Funktion zum Effekt der Echounterdrückung bei.

Neben Echounterdrückung, short-term response suppression und Verbesserung von Signal-Rausch Verhältnissen kann dem inhibitorischen System im CN noch eine weitere Funktion zugeschrieben werden. Frisina und Walton (1994) demonstrierten bei Neuroneneinheiten im DCN des Chinchillas starke synchrone Antwortmuster auf amplitudenmodulierte Tonstimuli sowohl in Ruhe, als auch im Hintergrundgeräusch. Die Amplitudenmodulierung blieb trotz starker Intensitäten und Hintergrundgeräusche bestehen und Frisina und Walton vermuteten, dass inhibitorische Interneurone für die verbesserte Antworteigenschaften verantwortlich sind. Backoff et al. (1999) konnte durch Versuche am Chinchilla diese Vermutung bestätigen. Der GABAerge bzw. glyzinerge Input formt die Antworten bestimmter Neurone im DCN und PVCN auf amplitudenmodulierte Tonstimuli und ist verantwortlich für die verbesserte zeitliche Codierung amplitudenmodulierter Reize sowohl bei starken Intensitäten oder im Hintergrundgeräusch. Das inhibitorische System mit den Transmittern GABA und

Glyzin trägt somit zur Erfassung sich schnell verändernder Intensitätsunterschiede in komplexen Tonstimuli und somit zur Spracherkennung bei.

Die Aufgabe des Gehörs ist neben der Orientierung in der Umwelt, dem Richtungshören, die Spracherkennung und somit die Aufrechterhaltung der Kommunikation. Die Sprache in ihrer physikalischen Form stellt eine komplexe Abfolge sich zeitlich schnell ändernder Schallreize dar. Um sie richtig wahrnehmen zu können müssen schnell veränderliche Intensitäts- und Frequenzunterschiede erfasst, minimale Lücken in der Tonabfolge erkannt und zeitlich genau codiert und weitergeleitet werden. Mit den oben beschriebenen möglichen Funktionen, die inhibitorische Transmitter im CN beeinflussen können, ist es einleuchtend, dass Veränderungen in diesem System zu beeinträchtigter Codierung und somit gestörter Wahrnehmung akustischer Reize, folglich auch der Sprache führen können.

5. Das Problem Presbycusis – altersbedingter Hörverlust

Presbycusis ist eine der häufigsten Krankheiten, mit der älter werdende Personen belastet sind. Das Problem der Hörbeeinträchtigung im Alter ist mit zwei Symptomen vergesellschaftet. Zum einen stellt sich das Problem des Sensitivitätsverlustes, vor allem für hohe Töne. Zum anderen ist das Hauptproblem ein verschlechtertes Sprachverständnis vor allem bei Hintergrundgeräuschen. Beide Symptome sind Ursache von Alterungsprozessen im Ohr und Gehirn. Sensitivitätsverlust beginnt in der Peripherie des Hörsystems und ist vor allem durch Verlust von Haarzellen, metabolischen Zellen, verminderte Durchblutung und Verlust von Hörnervfasern bedingt (Frisina, 2001). Eine verminderte Frequenzselektivität und eine Erhöhung der Schwellenwerte ist die Folge (Salvi et al., 2001). Höhere Lautstärken sind zum Verständnis notwendig. Diese Art „peripherer Hörstörung“ beginnt in der Regel zuerst mit einer Verminderung von Haarzellen im basalen (hochfrequenten) Bereich der Cochlea. Degenerierende Effekte beginnen mit einem Verlust von äußeren Haarzellen, die empfindlicher auf schädliche Einflüsse, wie Hypoxie, Fieber, Lärm, Antibiotika und anderer interner und externer Umwelteinflüsse reagieren. Erst mit dem Verlust innerer Haarzellen verringert sich danach auch die Zahl der Hörnervfasern. Infolgedessen reduziert oder verschlechtert sich die weitergeleitete

Information, was unter Umständen zu Problemen beim Sprachverständnis führen kann. Zudem treten Veränderungen im zentralen Bereich des Hörsystems auf, was sich in verminderter Neuronenzahl, Struktur und Biochemie der Neurone äußern kann. Die dadurch bedingte „zentrale Hörstörung“ tritt infolge direkter Alterungsprozesse im Gehirn und/oder aufgrund altersbedingter Veränderungen im peripheren System auf (Frisina, 2001).

Genau diese zentralen Veränderungen stellen für den Behandler, für den Wissenschaftler und in erster Linie für den betroffenen Patienten ein entscheidendes Problem dar. Trotz Hörhilfen, die den erhöhten Schwellenwert ausgleichen können und so zu einer verbesserten Hörqualität in ruhiger Umgebung führen, liefern sie wenig Hilfe in lautem gesellschaftlichem Umfeld, wie z.B. in Restaurants (Salvi et al., 2001). Zudem weisen manche ältere Patienten trotz normalem peripherem Hörvermögen ein verschlechtertes Sprachverständnis auf. Dies weist darauf hin, dass unabhängig von peripheren Alterungsprozessen zentrale Veränderungen im Laufe des Älterwerdens auftreten (Frisina und Frisina, 1997); Veränderungen, die dazu führen, dass akustische Signale zeitlich nicht mehr richtig verarbeitet werden können. Physiologische und psychoakustische Studien, die auf dem Paradigma der Lückenerkennung arbeiten, machen dies deutlich:

Boettcher et al. (1996) verglichen bei jungen und alten Gerbils die Laufzeiten evozierter Potentiale nach dem ersten und zweiten Klick für Summenaktionspotentiale am Hörnerv und bei Hirnstammpotentialen. Dabei war bei alten Tieren (33-37 Monate) für kurze Lücken zwischen den Klicks die Welle iv beim Hirnstammpotential deutlich verzögert im Vergleich zu Ableitungen am Hörnerv. Die Laufzeiten der Aktionspotentiale nach dem ersten Klick unterschieden sich dagegen kaum. Boettcher et al. folgerten daraus, dass es Veränderungen in der Codierung zeitlicher Informationen auf der Ebene des Hirnstamms gibt, die unabhängig peripherer Veränderungen auftreten. Zudem vermuteten sie einen verminderten inhibitorischen Einfluss als Ursache für die verschlechterte Reizantwort alter Tiere. Vergleichbare Latenzverlängerungen konnten Poth et al. (2001) beim Menschen unter ähnlichen Reizparametern feststellen.

Hamann et al. (2004) kamen mit psychoakustischen Testverfahren beim Gerbil zu übereinstimmenden Ergebnissen. Zum Vergleich mit jungen Tieren wurden alte Tiere mit nur geringem altersabhängigem Hörverlust herangezogen (Hamann, 2002).

Dabei zeigte sich, dass die minimal erkennbare Lückendauer alter Gerbils im Vergleich zu jungen Tieren signifikant erhöht war. Die Ergebnisse verlängerter Lückenerkennungsschwellen unabhängig von einer peripheren Hörbeeinträchtigung stimmten mit großer Ähnlichkeit mit dem veränderten Zeitauflösungsvermögen bei älteren Menschen überein (Snell et al., 1997, Snell und Frisina, 2000). Sowohl beim Mensch als auch bei der Wüstenrennmaus nahm die inter-individuelle Streuung der Zeitauflösung zu: ein Teil der alten Probanden oder Tiere war deutlich betroffen, während bei einem anderen Teil die Zeitauflösung kaum beeinträchtigt erschien.

In einer Studie von Gleich et al. (2007) wurde unter dem Paradigma des „forward masking“ (Nachverdeckung) der Schwellenwert ermittelt, der für die Detektion eines maskierten Testtones notwendig war. Um den Einfluß peripheren Hörverlusts möglichst zu minimieren, wurden nur diejenigen alten Tiere verwendet, die im unmaskierten Testton keine erhöhten Schwellenwerte aufwiesen. Es zeigte sich bei alten Tieren trotz normalem peripherem Hörvermögen eine altersbedingte signifikante Erhöhung des Schwellenwertes, um den Testton unter der maskierten Bedingung zu erkennen. Im Vergleich zum Paradigma der Lückenerkennung scheint diese Methode zum Messen altersbedingter Änderungen effektiver zu sein (Gleich et al., 2007).

Alle obigen Autoren, die sich mit alterbedingten Veränderungen beschäftigen, legen die Vermutung nahe, dass Veränderungen am inhibitorischen System die Ursache funktioneller Defizite sind. Auch Caspary et al. (2008) macht den Verlust inhibitorischer Neurotransmission für die Beeinträchtigung der Schallverarbeitung verantwortlich. Durch pharmakologische Erhöhung des GABA-Spiegels im Gehirn konnten Gleich et al. (2003) tatsächlich eine Normalisierung der Zeitauflösung bei Gerbils mit gestörter Zeitauflösung feststellen. Die minimal wahrnehmbare Lücke in einem 800ms langem Breitbandrauschen verbesserte sich bei 10 dBSL und 30dBSL durch die Gabe von gamma-vinyl-GABA (Sabril). Dieses Medikament hemmt den Abbau von GABA, das an der Synapse freigesetzt wurde und führt so insgesamt zu einem erhöhten extrazellulären Spiegel von GABA im Gehirn (Löscher und Frey, 1987). Bei Tieren mit gestörter Zeitauflösung führte das Medikament zu einer Verbesserung, wobei es keinen Einfluss auf die Zeitauflösung bei den Tieren mit normaler Lückendauer hatte. Somit konnte nochmals die Bedeutung inhibitorischer

Transmitter, in diesem Fall GABA, für eine optimale zeitliche Verarbeitung akustischer Signale, dargestellt werden.

Entscheidend für die Entwicklung geeigneter Therapien und einer effektiven Behandlung ist deshalb zu wissen, wo und wie sich Alterungsprozesse im Gehirn abspielen. Wie verändern periphere Hörstörungen zentrale Kerne der Hörbahn und wie äußern sich Veränderungen in der zentralen Hörbahn, die durch gemeine Alterungsprozesse bedingt sind. Um dieser Frage nachzugehen, wird in dieser Arbeit der CN auf morphologische Veränderungen untersucht. Es wurden Messungen durchgeführt, die Aufschlüsse über Größenveränderungen der CN-Unterkerne AVCN, PVCN und DCN und Veränderungen von Anzahl und Dichte GABA- und glyzinexprimierender Neurone, liefern. Es kann aber nicht beurteilt werden, welchen Ursprung diese Veränderungen haben. Deshalb werden frühere Arbeiten zum Vergleich herangezogen, die sich mit den rein peripher bedingten und peripher und/oder zentral bedingten Veränderungen beschäftigen.

6. Alterbedingte Veränderungen im CN

6.1 Vergleichende morphometrische Untersuchungen im AVCN

Willott et al. (1987) benutzte in seinen Untersuchungen zwei genetisch verschiedene Mäusestämme, um altersbedingte Veränderungen im AVCN zu untersuchen. Zum einen verwendeten sie den C57BL/6J- Stamm, der genetisch bedingt einen im jungen Erwachsenenalter einsetzenden, progredienten chronischen, cochleären Hörverlust aufweist. Dieser zeichnet sich durch substantiellen Ganglienzellverlust vor allem im basalen Teil der Cochlea aus. Zum Vergleich verwendeten sie den CBA/J- Stamm, welcher erst spät im Leben einen moderaten Hörverlust aufweist. Somit konnten sie direkt durch den Vergleich altersgleicher Tiere beider Stämme Veränderungen im AVCN zum einen auf peripher bedingten Einfluss (C57 Mäuse) oder auf Alterungsprozesse per se (CBA Mäuse) zurückführen.

Bei beiden Stämmen zeigten sich keine signifikanten Volumenänderungen des AVCN als Funktion des Alters. Die Zellzahlen und Neuronendichten nahmen bei den C57 Mäusen während der initialen Phase des Hörverlusts zwischen 2 und 7 Monaten

signifikant ab, blieben aber trotz fortschreitenden peripheren Hörverlusts über die weitere Lebensspanne konstant. Der Rückgang der Neuronendichte zeigte sich besonders im dorsalen Bereich (hohe Frequenzen) des AVCN ausgeprägt. Bei den CBA Mäusen zeigt sich ein Rückgang in Zellzahl und Dichte nur im zweiten Lebensjahr. Die Tatsache, dass C57 Mäuse in höherem Alter, wie es bei den CBA Mäusen der Fall ist, nicht noch einen zusätzlichen Zellverlust aufweisen oder auch, dass sie trotz progredientem Hörverlust ab 7 Monaten keinen weiteren Zellverlust aufweisen, deutet darauf hin, dass der Neuronenverlust nicht einfach eine Funktion verminderten peripheren Inputs ist. Willott et al. (1987) schließen daraus, dass der AVCN besonders anfällig auf periphere Störungen im jungen Erwachsenenalter und auch spät im Leben reagiert und dass chronische Beeinträchtigung nicht in beliebig fortlaufenden Zellverlusten resultiert. Dies bestätigten Willott und Bross (1996) in einer Folgearbeit, in der sie morphologische Veränderungen in DBA/2J und C57 Mäusen verglichen. DBA Mäuse entwickeln schon ab 4 Wochen einen beschleunigten cochleären Schaden, beginnend im hochfrequenten Bereich. Im Vergleich zu C57 Mäusen entwickelt sich ihr Hörverlust früher und mit höherer Intensität. Dabei stellten die Autoren fest, dass die morphologischen Veränderungen im AVCN bei den DBA Mäusen denen der C57 ähneln, nur entwickelten sie sich eben zu einem früheren Zeitpunkt. Nach einem Jahr waren die morphologischen Veränderungen auf Gleichstand.

In einem anderen Versuch untersuchten Willott et al. (1994), inwieweit chronische cochleäre Schädigung auf die Morphologie des CN Einfluß nimmt. Dabei setzten sie CBA Mäuse unterschiedlicher Altersgruppen beginnend ab 2 Monaten unterschiedlich lang konstantem Breitbandrauschen mit 135 dB aus und verglichen sie mit entsprechend alten Tieren ohne auditiver Behandlung (Kontrollgruppe). Sie konnten zeigen, dass die AVCN-Volumina sich in allen beschallten Altergruppen verglichen zu altersgleichen Kontrollgruppen signifikant verringerten, ebenso erhöhte sich die Neuronendichte, weil die Zellzahlen im Netto fast unverändert blieben, was auf einen Verlust des Neuropils und somit der Innervation hinweist. Einen additiven Effekt zum Alter konnten sie nicht feststellen. Ebenso trug die Dauer der Beschallung, also die Chronizität, zu keiner zusätzlichen Veränderung bei.

Willott et al. untersuchten nochmals die Frage, ob Mäuse im jungen Erwachsenenalter tatsächlich sehr empfindlich auf periphere Störungen reagieren, so wie Willott et al. es 1987 bei C57 Mäusen feststellte (diese erleiden genetisch bedingt

zwischen 1 und 7 Monaten cochleären Hörverlust). Somit müssten CBA Mäuse, die ab 2 bis 6 Monaten beschallt wurden, im Vergleich zu Mäusen, die erst zu einem späteren Zeitpunkt beschallt wurden, entsprechend deutlichere Schäden aufweisen. Willott et al. (1994) konnten keinen Beweis erbringen, dass peripherer Schaden einen größeren Effekt im CN bei jungen erwachsenen Mäusen nur aufgrund des Alters per se hervorruft. Sie führten genetische Gründe als Ursache für den signifikanten Verlust von Zellzahlen und Neurondichten bei C57 Mäusen an. Das Lebensalter in dem peripherer Schaden in der ausgereiften Cochlea eintrat, schien generell keinen Einfluss auf das Ausmaß zentraler Veränderungen zu haben.

Gleich und Strutz (1997) untersuchten beim „unausgereiften“ Gerbil einen altersbedingten Effekt in Abhängigkeit des Zeitpunkts einer direkten Gehörschädigung auf das Volumen der CN-Unterkerne. Dazu zerstörten sie die Funktion der Gehörknöchelchen im Mittelohr auf der rechten Seite des Gerbils bei vier verschiedenen Altersgruppen (P12-14, P20-21, P42 und P85). Hier wurde im Gegensatz zu den weiter oben aufgeführten Arbeiten bei Mäusen nur die Schallübertragung durch das Mittelohr beeinträchtigt und keine Schädigung der Cochlea angestrebt. Die Tiere wurden alle bis zu einem Alter von 6 Monaten gehalten. Die quantitative Analyse von P12 und P14 zeigte, dass sich das Neuropil-Volumen des AVCN auf der deprivierten Seite im Vergleich zur undeprivierten Seite um fast 20% reduzierte. Mit späteren Deprivationszeitpunkten nahm die Größe der Volumenreduktion ab. Es zeigte sich in Bezug auf den Deprivationszeitpunkt ein altersbedingter Effekt. Ab einem Alter von 3 Monaten, bei dem das Hörsystem ausgereift war, führte eine Deprivation zu keiner Volumenreduktion, blieb für diesen Messparameter also ineffektiv. Andere Untersuchungen von Gleich et al. (1998), die sich mit dem postnatalem Wachstum der CN- Unterkerne des Gerbils beschäftigten, zeigten für das Volumen des AVCN eine deutliche Volumenzunahme nach dem Einsetzen der Hörfähigkeit mit 12 bis 14 Tagen, bis es sein Maximum mit 3 bis 4 Monaten erreicht hat. Der Zeitpunkt, an dem Hörschädigung ineffektiv wird, fällt genau mit dem Ende des Wachstums des AVCN zusammen. Deshalb schlossen Gleich und Strutz (1997) auf eine „sensitive oder kritische Periode“, in der direkte Hörschädigung auf das Volumen des AVCN Einfluss nehmen kann. Sie endet beim Gerbil, wenn das natürliche postnatale Volumenwachstum mit 3 bis 4 Monaten eingestellt ist.

Gleich und Strutz (1997) konnten beim Gerbil gut verdeutlichen, dass es sich um einen Rückgang des Neuropilvolumen handelt. Die Zellsomata der Prinzipalzellen im AVCN erreichen ihre endgültige Größe schon mit Abschluß des 12. Lebensstages und bleiben somit wahrscheinlich von der Hörschädigung unbeeindruckt.

Vergleichend mit anderen Spezies zeigte sich auch bei der Maus (Webster, 1988) und bei der Ratte (Coleman et al., 1982) diese kritische Periode während der postnatalen Reifung, wobei das Ausmaß des Volumenrückgangs ebenfalls vom Zeitpunkt und der Art der Hörschädigung während dieser Phase abhing.

In einer Deprivationsstudie am Gerbil konnte Hashisaki et al. (1989) die Auswirkung des Zeitpunkts einer Cochleaentfernung auf die Zellzahlen im AVCN untersuchen. Sie verglichen Tiere, die mit einer Woche und mit 20 Woche depriviert wurden und untersuchten jeweils nach 2 Tagen bzw. 2 und 9 Wochen die Veränderungen an den Zellzahlen. Gerbils mit einer Woche zeigten bereits nach 2 Tagen einen Rückgang der Neuronenzahl um 35%, bei der Untersuchung nach 2 Wochen um 58% und nach 9 Wochen um 59%. Bei den Tieren, die mit 20 Wochen ertaubt wurden, konnte sowohl nach 2 Tagen, als auch nach 2 Wochen kein Zellrückgang gefunden werden. Auch diese Daten bestätigen das Vorliegen einer sensiblen Phase.

6.2 Beurteilung morphometrischer Veränderungen im AVCN

In der vorliegenden Arbeit zeigte sich für den AVCN eine signifikante Abnahme der mittleren Querschnittsfläche bei alten Tieren (Diagramm 1). Im DCN und im PVCN konnten keine statistisch signifikanten Veränderungen der Querschnittsfläche zwischen jungen und alten Gerbils nachgewiesen werden. Die Schrumpfung des AVCN betraf nicht alle alten Tiere gleichmäßig. Ein Teil der alten Tiere wies Werte auf, die denen junger Tiere entsprachen, während bei einem Teil der alten Tiere der AVCN einer deutlichen Schrumpfung unterlag. Obwohl nur 2 sehr alte Tiere untersucht wurden, weist Fig. 1 aus der Studie von Gleich et al. (1998) ebenfalls darauf hin, dass das Volumen des AVCN bei alten Tieren abnehmen kann, während dies beim DCN nicht zu beobachten war. Die im Kapitel 6.1 aufgeführten Untersuchungen weisen darauf hin, dass das Volumen des AVCN in Deprivationsexperimenten besonders kritisch auf einen Hörverlust in den ersten Lebenswochen reagiert. So könnte eine Ursache für die kleineren Messwerte des AVCN bei einigen der alten Tiere durch eine frühe postnatale Hörstörung

hervorgerufen sein. Dies scheint aber unwahrscheinlich, da die Ergebnisse von Hamann et al. (2002) oder Mills et al. (1990) darauf hindeuten, dass das Hörvermögen in größeren Populationen von Laborgerbils erst bei höherem Lebensalter (> 2 Jahren) beeinträchtigt erscheint. Es ist deshalb unwahrscheinlich, dass fast die Hälfte der hier untersuchten Tiere schon kurz nach der Geburt eine Hörstörung aufwies. Die Studie von Gleich et al. (1998) zeigt, dass das Volumen beim Gerbil zwischen dem 21. und 120. Tag um mehr als 60% zunimmt und beim greisen Gerbil (> 3Jahre) das AVCN Volumen wieder annähernd so groß ist, wie mit 42 Tagen.

Auch beim Menschen findet sich im Alter eine große interindividuelle Variabilität des VCN Volumens (Konigsmark und Murphy, 1972; Seldon und Clark, 1991). In Abbildung 7 sind die Originaldaten von Konigsmark und Murphy, sowie von Seldon und Clark aufgeführt. Es wurden hier für eine willkürlich gesetzte Altersgrenze von 30 Jahren die beiden linearen Regressionslinien eingetragen und es wird ganz klar die Tendenz sichtbar, dass das VCN Volumen im Alter beim Menschen abnimmt. ($p < 0.001$). Die Regressionslinie weist darauf hin, dass das VCN-Volumen beim Mensch zwischen 30 und 80 Jahren im Mittel um 25% abnimmt. Für die Wüstenrennmaus konnte hier gezeigt werden, dass die Querschnittsfläche eines repräsentativen Querschnitts (als Indikator für das Volumen) durch den AVCN bei alten Tieren im Mittel um 13% niedriger als bei jungen Tieren ist (Tabelle 5, Diagramm 2). Berücksichtigt man die methodischen Unterschiede zwischen den Studien, so zeigt sich bei Mensch und Wüstenrennmaus eine Abnahme des AVCN-Volumens im hohen Lebensalter.

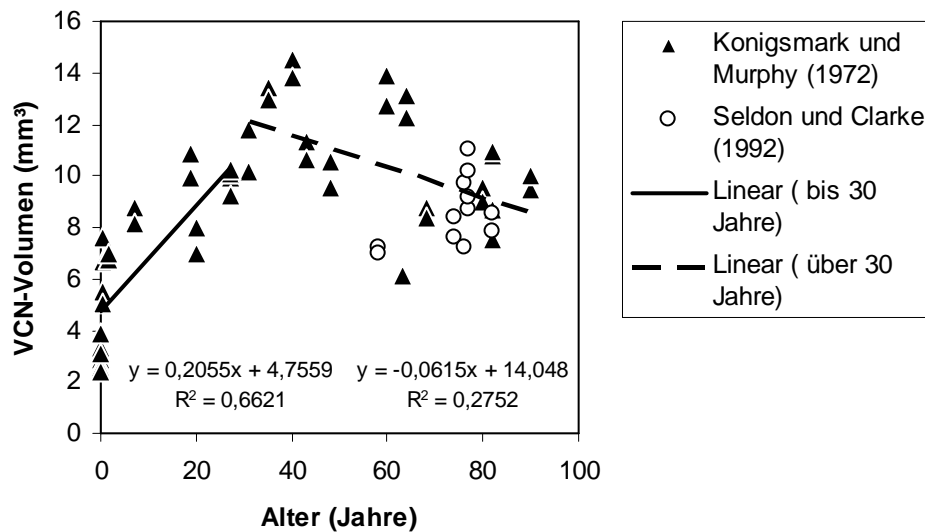


Abb. 7: Volumina des menschlichen VCN als eine Funktion des Alters nach Originaldaten von Königsmark und Murphy (1972) und Seldon und Clark (1991). Eine willkürlich gesetzte Altersgrenze von 30 Jahren und die beiden Regressionslinien verdeutlichen die Tendenz der Volumenabnahme des VCN im Alter beim Menschen.

Ein Einfluss des Alters auf die Anzahl inhibitorischer Neurone im AVCN konnte in dieser Arbeit nicht festgestellt werden (Diagramme 5, 6), auch wenn die mittlere Anzahl GABAerger Neurone bei alten Tieren geringfügig niedriger als bei jungen Tieren war. Ein signifikanter Unterschied in der Zellzahl zwischen jungen und alten CBA Mäusen wie in der Arbeit von Willott et al. (1987) bestand nicht. Selbst bei den Tieren mit verminderter Querschnittsfläche ergab sich kein Hinweis für einen Verlust an GABAergen und glyzinerger Neuronen bei alten Tieren (Diagramm 7). Willott et al. untersuchten die Mäuse mit der Nissl-Färbung und konnte somit inhibitorische Neurone nicht von den exzitatorischen differenzieren. Ob und wie in ihrer Studie die inhibitorischen Interneurone und Prinzipalzellen unterschiedlich verändert waren, steht nicht fest. Dies könnte ein möglicher Grund für die unterschiedlichen Ergebnisse beider Arbeiten sein.

Die Dichten im AVCN in dieser Arbeit verhielten sich entsprechend ihres Quotienten aus Zellzahl und Fläche. Dementsprechend nahm für die Tiere mit kleinen Querschnittsflächen die Dichte im Mittel zu, der Unterschied war aber nicht signifikant (Diagramm 11).

Die Zellzahlen und Dichten inhibitorischer Neurone im AVCN zeigen sich trotz hohen Alters (>3 Jahre) und möglicher Hörbeeinträchtigung (Hamann et al., 2002, Mills et al., 1990) im Gegensatz zur Fläche unbeeinflusst.

Beim alten Gerbil ist neben dem hochfrequenten Bereich auch der niedrigfrequente Bereich der Cochlea betroffen, wobei Tarnowski et al. (1991) darauf verweist, dass Schwellenerhöhungen beim Gerbil nicht direkt mit Haarzellverlusten einhergehen. Auch Veränderungen in der Stria Vascularis und Verluste in endocochleären Potentialen tragen zu erhöhten Schwellenwerten bei. Mehrere physiologische Studien konnten anhand von Hirnstammableitungen Beweise für einen charakteristischen alterbedingten Hörverlust bei Gerbils liefern (Mills et al., 1990, Boettcher et al., 1993a, Hamann et al., 2002): Ab einem Alter von 2 Jahren macht sich eine Schwellenerhöhung von 10-15 dB bemerkbar. Ab 3 Jahre alte Gerbils zeigen eine rapide Schwellenwerterhöhung, die sich vor allem bei hohen Frequenzen bemerkbar macht (30 dB, 8-16 kHz, vergleiche dazu Fig. 3 in Hamann et al., 2002). Wenn peripherer Hörverlust einen Einfluß auf die Dichte inhibitorischer Neurone hat, müsste dieser vor allem im dorsalen Bereich des AVCN zu erkennen sein. Die Daten aus Diagramm 12 und 13 geben aber keinen Hinweis dafür, dass das Alter die Dichte inhibitorischer Neurone signifikant beeinflusst und es gibt auch keine Hinweise darauf, dass die Unterschiede zwischen jungen und alten Gerbils im dorsalen (hochfrequenten) größer als im ventralen (niedrigfrequenten) und mittigen (mittelfrequenten) AVCN wären. Hamann et al. (2002) konnten durch Verhaltensstudien bei Gerbils im Alter zwischen 30 und 36 Monaten eine geringfügige aber signifikante Schwellenerhöhung von im Mittel 7 dB im niedrigfrequenten Bereich (bei 2 kHz) feststellen. Bei Tieren älter als 3 Jahren waren die Schwellenwerte auch bei 10 kHz signifikant erhöht. Relativ zu jungen Gerbils waren die Schwellenwerte bei 39-45 Monate alten Gerbils um 15-30 dB erhöht. Da in dieser Arbeit alle alten Tiere über 36 Monate waren, wäre hier ein schwacher (bis 25 dB) bis milder (bis 40 dB) Hörverlust (entsprechend der Klassifikation nach Clark, 1981) zu erwarten. Wahrscheinlich reicht ein schwacher bis milder Hörverlust nicht aus, um merkliche Veränderungen in der Dichte inhibitorischer Neurone zu bewirken.

6.3 Vergleichende morphometrische Untersuchungen im PVCN

Willott und Bross (1990) konnten bei der CBA/J Maus innerhalb der ersten 12 Monate eine Volumenzunahme der Oktopuszellregion (vergleichbar hier mit dem dorsalen Bereich des PVCN) um 43% aufzeigen. Zwischen 12 und 29 Monaten

zeigte sich eine deutliche Volumenabnahme, wobei Willott und Bross dies nicht statistisch belegten, da sie nicht alle Grenzen genau festlegen konnten. Ebenfalls wie die CBA/J Maus zeigte die C57 Maus nach dem ersten Lebensjahr eine deutliche Volumenabnahme, wobei bei diesem Mäusestamm der Hörverlust bereits ab dem 2. Lebensmonat einsetzt. Willott und Bross (1990) führten den Volumenrückgang der Oktopuszellregion auf einen Verlust an „octopus cells“, dendritischer und primärer cochleärer Fasern zurück. Den Hauptanteil an der Volumenabnahme sehen Willott und Bross im Fehlen des massiven dendritischen Baumes der „octopus cells“. Die Autoren sehen die ähnlichen morphologischen Veränderungen in beiden Stämmen als Alterungsprozess per se und nicht als eine spezifische Ursache peripheren Hörverlusts. Dennoch kommt es bei CBA/J-Mäusen ab einem Alter von 12 Monaten zu einem progressiven hochfrequenten Hörverlust (an die 60 dB ermittelt durch Hirnstammableitung bei 24 kHz, Sha et al., 2008), was den Volumenrückgang ab 12 Monaten erklären könnte. In einer nachfolgenden Studie, in der CBA/J Mäuse durch Beschallung ab 2, 6 und 11 Monaten peripheren Schaden erlitten, zeigten Mäuse mit 11 und 24 Monaten eine wesentliche Volumenabnahme der Oktopuszellregion verglichen mit gleichaltrigen unbeschallten CBA/J Mäusen (Willott und Bross, 1994). Ein wichtiger Faktor bei diesen Untersuchungen mit Mäusen, der zur Abnahme des Volumens der Oktopuszellregion führte, scheint also ein peripherer Hörverlust zu sein, auch wenn das Muster von Hörverlust und Volumenabnahme bei der C57 Maus nicht perfekt korreliert.

Bei Deprivationen durch eine Schalleitungsschwerhörigkeit innerhalb der sensiblen Phase konnten Gleich und Strutz (1997) beim Gerbil keine signifikanten Volumenänderungen des PVCN feststellen. Die deprivierte Seite unterschied sich zur undeprivierten Seite bei einem Deprivationszeitpunkt von 14 Tagen um annähernd 12%, der Unterschied war aber nicht signifikant. Ein wichtiger Unterschied zwischen den Deprivationsexperimenten bei Mäusen und Gerbils besteht in der Art des Hörverlustes: Bei der Schalleitungsschwerhörigkeit wird nur die Gehörknöchelchenkette unterbrochen und die Cochlea bleibt intakt während es nach Schalltraumen zu einem Haarzell- und nachfolgenden Hörnervenfaser-Verlust kommt.

6.4 Beurteilung morphometrischer Veränderungen im PVCN

Untersuchungen in dieser Arbeit ergaben für die Querschnittsfläche im PVCN keine signifikante altersbedingte Veränderung (Diagramm 2). Da laut Hamann et al. (2002)

der Hörverlust bei Gerbils über 3 Jahren eher gering ausfällt (bis zu 30 dB im Tonaudiogramm), scheint dieses Ergebnis einleuchtend. Vergleichend zur Studie von Willott und Bross (1990) muß folgendes berücksichtigt werden: Hier wurden CBA/J Mäuse im Vergleich zu C57 Mäusen als „normalhörend“ eingestuft und als Indikator für zentrale Hörstörungen eingesetzt. Zugleich sind 29 Monate alte CBA/J Mäuse extrem alt und können mit über 36 Monate alten Gerbils verglichen werden. Dennoch muß ein Vergleich zwischen CBA/J Mäusen und Gerbils differenziert betrachtet werden. CBA/J Mäuse entwickeln im hochfrequenten Bereich ab 12 Monaten (24 kHz) bzw. ab 18 Monaten (12 kHz) profunde Hörstörungen mit Haarzellverlust, die sich ab 24 Monaten mit Schwellenwerterhöhungen bis über 100dB auszeichnen können (Sha et al., 2008). Das sind Werte, die Gerbils über 36 Monate in diesem Umfang nicht erreichen. Die Schwellenerhöhung liegt laut Mills et al. (1990) in einem Bereich von 8-16 kHz bei 30-35 dB. Der tatsächlich ermittelte milde Hörverlust durch Verhaltensstudien im Tonaudiogramm von bis zu 30 dB bei Gerbils über 36 Monaten (Hamann et al., 2002), bewirkt offenbar keine Verkleinerung des PVCN Volumens.

Zellzahl und Zelldichte GABAerger und glyzinerger Neurone nahmen im PVCN alter Gerbils zu, wobei die Zunahme nur für Glyzin signifikant war (Diagramme 17, 21). Für eine Einschätzung altersbedingter Veränderungen glyzinerger Neurone liegen leider keine vergleichbaren Daten vor. Trotzdem ist dieser Befund überraschend, da die meisten bisherigen Befunde eher darauf hindeuten, dass es im Alter zu Defiziten beim inhibitorischen System kommt (Banay-Schwartz et al., 1989a,b, Caspary et al., 1995, Willott et al. 1997, Caspary et al., 2008).

Die Zunahme glyzinerger Neurone zeigte sich in dieser Arbeit vornehmlich im ventralen Bereich des PVCN (Diagramm 23B) durch eine signifikante Zunahme ihrer Dichte. Die Dichte GABAerger Neurone nimmt sowohl im ventralen Bereich des PVCN, als auch wie hier signifikant in der Oktopuszellregion (dorsalen Bereich) zu (Diagramm 23A). Die signifiante Dichtezunahme GABAerger Neurone im dorsalen Bereich ist kritisch zu betrachten. Denn im Bereich der Oktopuszellregion war die Anzahl der Zellen insgesamt sehr gering (Tabelle 37A), so dass hier die Variabilität besonders hoch war.

6.5 Vergleichende morphometrische Untersuchungen im DCN

Beim Vergleich möglicher zentraler Veränderungen im DCN bei C57 und CBA/J Mäusen konnte Willott et al. (1992) bei den C57 Mäusen (progressiver Hörverlust ab 2 Monaten) eine signifikante Volumenabnahme bereits ab diesem Monat für die tiefe Schicht feststellen. Die Volumina der beiden oberen Schichten änderten sich während der ersten 24 Monate wenig, wobei das Volumen der tiefen Schicht dann schon mehr als 20% abgenommen hat. Eine altersbedingte Abnahme in der Neuronenzahl ergab sich bei C57 Mäusen nur in der tiefen Schicht, nicht aber in der molekularen und fusiformen Schicht. Bei CBA Mäusen, bei denen eine Hörbeeinträchtigung erst ab 18 Monaten einsetzt (Sha et al., 2008) zeichnete sich für die tiefe Schicht eine Volumenabnahme erst ab 2 Jahren ab. Alternde CBA Mäuse zeigten keine signifikanten Neuronenverluste. Die Veränderungen im DCN beider Mäusestämme zeigten, dass periphere Hörstörungen sich vor allem auf Volumenänderungen in der tiefen Schicht des DCN auswirken. Da die tiefe Schicht den meisten cochleären Input im DCN erhält, treten Veränderungen am ausgeprägtesten in der tiefen Schicht des DCN hervor.

Diese Tatsache wird auch in einer weiteren Studie von Willott et al. (1994) deutlich. Beim Vergleich mit gleichaltrigen unbeschallten CBA Mäusen bewirkte ein lärminduzierter cochleärer Schaden im DCN signifikant verringerte Volumina. Die Auswirkungen der Schallschädigung waren auf die tiefe Schicht des DCN begrenzt. Eine Zunahme der Neuronendichte (bewirkt durch verringerte Volumina in den Segmenten) war im Vergleich zu unbeschallten Mäusen in der fusiformen und tiefen Schicht signifikant. Zwischen den beschallten und unbeschallten CBA Mäusen ergab sich kein signifikanter Unterschied in der Neuronenzahl, also kein Neuronenverlust durch die Beschallung (Willott et al., 1994).

Interessant im Hinblick auf den Effekt cochleärer Schädigung und/oder Altern auf inhibitorische Neurone ist die Studie, die Willott et al. 1997 durchführte. Dabei blieb die Dichte glyzinerger Neurone bei C57 Mäusen während der ersten 12 Monate unverändert, wobei diese dann in allen drei Schichten signifikant abnahmen. Bei CBA Mäusen blieb die Dichte bis ins hohe Alter unverändert. Willott et al. folgerten daraus, dass weder cochleärer Schaden in jungem Alter (12 Monate alte C57 Mäuse), noch extremes Alter ohne schwere periphere Pathologie (CBA Mäuse),

zwingend in signifikante Veränderung glyzinerger Immunreaktivität führen. Eine Abnahme glyzinreaktiver Neurone besteht nur bei alten Mäusen mit chronischem, schwerem Hörverlust (alte C57 Mäuse).

Als weiteres folgerten Willott et al., dass „cartwheel cells“ in alten C57 Mäusen durchaus noch vorhanden sind, jedoch ihre Immunreaktivität für Glyzin verloren haben. Denn in früheren Studien (Willott et al., 1992) waren in der C57 Maus nur ein altersbedingter Neuronenverlust in der tiefen Schicht und kein reiner Zellverlust in der molekularen und fusiformen Schicht auszumachen. Willott et al. vermuten, dass in der Zählung von 1992 glyzinerge Neurone enthalten waren. Jetzt war allerdings eine Abnahme glyzinerger Neurone in allen drei Schichten festzustellen. Somit müssten in den beiden oberen Schichten (hier sind als glyzinerge Zellen vornehmlich „cartwheel cells“ anzufinden) die Neurone nur ihre Glyzinreaktivität verloren haben.

Asako et al. (2005) konnte durch eine Deprivationsstudie zeigen, dass die glyzinerge Immunreaktivität in der tiefen Schicht des DCN durch periphere Schädigung stark beeinträchtigt werden kann. Durch 14- tägige binaurale Deprivation mittels Neomycin bei ausgewachsenen Ratten nahm neben der Somagröße die Zahl der glyzinpositiven „tuberculoventral cells“ in der tiefen Schicht des DCN im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant um 42% ab.

Beim Gerbil ist der DCN in seiner Gesamtheit unter den drei Kernen des CN am frühesten ausgereift. Der AVCN zeigt nach dem Einsetzen der Hörfähigkeit ein sehr starkes Volumenwachstum. Sein Volumen nimmt zwischen dem 21. und 120. Tag um mehr als 60% zu, wogegen der DCN ab dem 12. Tag nur noch eine moderate Volumenzunahme bis zum 21. Tag aufweist. Darüber hinaus (21. Tag bis 3 Jahre) gibt es keine systematischen Volumenänderungen. Der PVCN liegt mit seinem Wachstumsverhalten dazwischen (Gleich et al., 1998).

Diese frühere Reifung führt wahrscheinlich auch dazu, dass sich das DCN-Volumen durch Deprivationsversuche innerhalb der sensiblen Periode relativ unbeeindruckt zeigt. Deprivationen am 14. postnatalen Tag ergaben zwischen der deprivierten und der undeprivierten Seite des Gerbils eine Volumendifferenz von 7%.

Poljansky (2001) konnte im Rahmen seiner Doktorarbeit mittels Neomycin induzierter neonataler Cochlea-Schädigung zeigen, dass in der tiefen Schicht des DCN die Zahl

der GABAergen Neurone anstieg und wie bei der Ratte (Asako et al., 2005) die der glyzinerger Neurone abnahm.

6.6 Beurteilung morphometrischer Veränderungen im DCN

In dieser Arbeit konnte im DCN keine statistisch signifikante Veränderung der Querschnittsfläche zwischen jungen und alten Gerbils nachgewiesen werden (Diagramm 2). Dies stimmt mit den Beobachtungen, die Gleich et al. (1998) beim Gerbil mit einer anderen Tiergruppe machte, überein. Falls sich dennoch cochleäre Schädigungen entwickelt haben sollten, so wäre die Auswirkung auf den DCN geringer als auf den AVCN (Fleckeisen et al., 1991, Anniko et al., 1989) und vielleicht sogar für diese Art der Messungen unmerklich. Zudem weisen die Befunde von Hamann et al. (2002) darauf hin, dass der Hörverlust selbst bei Tieren über 3 Jahren eher gering (bis zu 30 dB im Vergleich mit jungen Tieren) ausfällt.

In dieser Arbeit hat das Alter keinen statistisch signifikanten Einfluss auf die Anzahl bzw. Dichte GABAerger bzw. glyzinerger Neurone (Diagramme 30,34), was mit den Versuchen von Willott et al. (1994; 1997) übereinstimmt. Dennoch nehmen die Dichten sowohl in der molekularen und tiefen Schicht, wenn auch nicht signifikant, vor allem für glyzinerger Neurone zu (Diagramm 36). Die Zunahme beruht hier mehr auf einer Zellzahlzunahme, als auf einer Flächenabnahme. Diese Beobachtung scheint paradox, nimmt doch laut Willott et al. (1997) die Dichte glyzinerger Neurone in der superfiziellen Schicht (vermutlich „cartwheel cells“) innerhalb 1 bis 29 Monaten um 61% und die der GABAergen um 27% ab. Ebenso steht sie im Widerspruch zu den Messungen, die Banay-Schwartz et al. (1989a, b) bei der Ratte machten. Die Glyzin-Konzentration nahm bei 29 Monate alten Ratten im CN um 29% im Vergleich zu 3 Monate alten Tieren signifikant ab, wobei die GABA-Konzentration unverändert blieb. Entgegen der Erwartungen aufgrund der anderen diskutierten Arbeiten wurde keine Abnahme gefunden, was möglicherweise darauf zurückgeführt werden kann, dass selbst die ältesten Tiere wahrscheinlich nur einen geringen Hörverlust hatten.

Die beobachtete geringfügige Zunahme der glyzinerger Zellen könnte auf einen ähnlichen Mechanismus zurückzuführen sein, wie es Idrizbegovic et al. (2001) für die Expression des calziumbindenden Proteins Calbinin im DCN bei CBA Mäusen beobachtete. Calbindin Immunreaktivität wurde hauptsächlich in der molekularen

Schicht in „cartwheel“ und „stellate cells“ gefunden und die Menge dieser Zellen wuchs signifikant mit dem Alter um 1,6% (1 bis 39 Monate). Die Autoren vermuten unter Anderem, dass dies eine de novo Expression dieses Proteins von Neuronen ist, die im jungen Alter das Calbindin nicht enthielten, dies aber im Laufe des Lebens immer mehr exprimieren. Calbindin wurde auch neu nach Cochleotomie von Zellen exprimiert, die vorher unter normalen Bedingungen dieses calziumbindende Protein nicht enthielten (Förster und Illing, 2000). Ob die hier beobachtete geringfügige und nicht signifikante Zunahme von glyzinexprimierenden Zellen peripher bedingt und/oder ein reiner Alterungsprozess ist, kann nicht geklärt werden.

Fest steht jedoch, dass periphere Hörstörungen laut der Befunde von Hamann et al. (2002) nur relativ gering ausfielen und da (mit Ausnahme des AVCN) kaum altersbedingte Veränderungen bei den untersuchten Parametern gefunden wurden, erscheint zumindest PVCN und DCN relativ resistent für rein altersbedingte Veränderungen.

Signifikante Veränderungen, die mehr die tiefe Schicht des DCN als die molekulare und fusiforme Schicht betreffen, konnten in dieser Arbeit nicht festgestellt werden.

Fest steht, dass sich cochleäre Hörschädigung bei den Untersuchungen an Mäusen im AVCN, PVCN und der tiefen Schicht des DCN manifestiert, also in Bereichen, die am stärksten von Hörnervfasern innerviert werden (Willott, 1996). Wobei sich der DCN im Vergleich zum AVCN am resistentesten gegenüber peripheren Störungen zeigt (Fleckeisen et al., 1991). Falls bei den in dieser Arbeit untersuchten Tieren periphere Hörstörungen auftraten, so zeigen sie sich am ehesten in der Flächenabnahme im AVCN.

Veränderungen im CN, die nur auf Alterungsprozesse per se zurückzuführen sind, konnten in dieser Arbeit nicht eindeutig festgestellt werden, andererseits weisen die Befunde von Hamann et al (2002) und Gleich et al. (2006) darauf hin, dass selbst bei den über 3 Jahre alten Gerbils der Hörverlust meist gering ausfällt und weit weniger als die Hälfte der Tiere einen Hörverlust von mehr als 20 dB aufweisen und selbst über 4 Jahre alte Tiere mit normalem Hörvermögen vorkommen. Dies könnte Begründen, dass die Veränderungen im CN der Wüstenrennmaus im Vergleich zu bisherigen Untersuchungen bei Mäusen und Ratten nur gering ausfallen und überwiegend auf den Alterungsprozesse per se zurückzuführen sind.

7. Physiologische altersbedingte Veränderungen im CN

Viele altersbedingte Veränderungen im inhibitorischen System mögen durch morphologische Untersuchungen nicht entdeckt werden. So fanden Willott et al., (1997) nur bei alten C57 Mäusen mit hochgradigem Hörverlust einen signifikanten Verlust glyzinerger Neurone und eine Abnahme von Glyzin-Rezeptoren, während bei sehr alten CBA Mäusen kein Verlust glyzinerger Neurone oder von Glyzin-Rezeptoren festgestellt wurde. Beim Vergleich von 3 und 29 Monate alten „Fischer 344“ Ratten konnten Banay-Schwartz et al. (1989a) eine Abnahme der Glyzinmenge (gemessen in nmol/mg Protein) um 29% und keine Veränderung in der GABA-Menge (Banay-Schwartz et al. (1989b) nachweisen. In der gegenwärtigen Arbeit konnte kein Hinweis darauf gefunden werden, dass die Anzahl GABAerger und glyzinerger Neurone in DCN und PVCN im Alter abnimmt (Diagramme 17, 30). Im AVCN hatte das Alter keinen Einfluß auf die Anzahl glyzinerger Zellen, während die Anzahl GABAerger Neurone im AVCN bei alten Tieren im Mittel 23% kleiner als bei jungen Tieren war (Diagramme 5, 6). Allerdings war dieser Unterschied in der gegenwärtigen Stichprobe nicht signifikant. Funktionell könnte sich aber nicht nur ein Verlust von inhibitorischen Zellen, sondern auch weniger gravierende Veränderungen (z.B. Schrumpfung von Zellen, wie sie z.B. für den MNTB bei alten Gerbils beschrieben wurde, Gleich und Strutz, 2002) auswirken.

Die physiologische Studie von Caspary et al. (2005) weist darauf hin, dass bei alten Ratten die Funktion der „tuberculoventral cells“ im DCN beeinträchtigt ist und zeigt auf, zu welchen Veränderungen im Antwortmuster der „fusiform cells“ dies führen kann:

Wie im Abschnitt 3 der Diskussion beschrieben, sind mithilfe inhibitorischer Verbindungen die Outputneurone im DCN in der Lage, Schallstimuli zeitlich genau sogar während lautem Hintergrundgeräusch über einen weiten Frequenzbereich hinweg zu codieren (Frisina und Walton, 1994, Caspary et al., 1994, Backoff et al. 1999). Verantwortlich hierfür sind vor allem die „tuberculoventral cells“, die stark hemmenden Input auf die „fusiform cells“ im DCN ausüben (Caspary et al., 1994) aber auch zum VCN projizieren. Durch Vergleiche mit Studien, die mit Glyzinrezeptorblockaden den Verlust inhibitorischer Hemmung imitieren, untersuchte Caspary et al. (2005) das Antwortverhalten von „fusiform cells“ im DCN junger und alter „Fisher Brown Norway“ Ratten. Sie fanden altersbedingt höhere maximale Entladungsraten (bei charakteristischen Frequenzen). Vor allem bei lauten Tönen ab

20 dB über der Schwelle nahmen die Entladungsraten (Entladungen pro Sekunde) nach einem Tonstimulus stark zu. Ebenso zeigten sich signifikante Veränderungen in der Verteilung so genannter „postsynaptischer Zeithistogramm-Typen“. Die Zahl der „pauser“-Neuronen nahm altersbedingt signifikant ab, wobei die Zahl der „wide-chopper“- und „buildup“- Neuronen anstieg. Zudem stellten sie höhere Entladungsraten während spontanen Aktivitäten bei älteren Ratten fest. Diese altersbedingten Veränderungen ähneln denen, die beobachtet wurden, wenn glyzinerger Input auf die „fusiform cells“ durch Strychnin geblockt wurde. Das Altern resultiert somit in einem selektiven Verlust glyzinerger inhibitorischer Prozesse (Caspary et al., 2005). Im Fall der „tuberculoventral cells“ würde sich dies auch auf den VCN und deren postulierten Beitrag zur Echo-Suppression auswirken (Wickesberg, 1990). Eine im Alter eingeschränkte Funktion der „tuberculoventral cells“ würde die Echo-Suppression, aber auch die Dynamik der Antworten der „fusiform cells“ beeinträchtigen, die beide für das Sprachverstehen, besonders während Hintergrundgeräuschen wichtig sind.

Der Abfall inhibitorischer Transmitterfunktion kann sich unter Anderem in veränderter Transmitter- Abgabe bzw. Aufnahme und veränderter Rezeptorbindungseigenschaften äußern (Caspary et al., 2008). Im folgenden Abschnitt wird deshalb auf Veränderungen im inhibitorischen System eingegangen, die sich mit lichtmikroskopischen morphologischen Untersuchungen nicht oder nur schwer nachweisen lassen.

8. Altersbedingte synaptische Veränderungen des inhibitorischen Systems

Helfert et al. (2003) stellte mittels elektronenmikroskopischer Untersuchungen bei „Fischer 344“ Ratten fest, dass die cytoarchitektonische Organisation des AVCN bei alten Tieren im Gesamten relativ stabil bleibt. Sie zeigten keine alterbedingten Veränderungen in der Neuronenzahl, Dichte und Zellgröße. Auch die Dichte und Anzahl der Anschnitte von Dendriten zeigten keine signifikanten Veränderungen beim Vergleich junger und alter Tiere. Nur die Größe der Terminalien, die Dendriten mit einem Durchmesser unter 2µm kontaktieren, nehmen signifikant ab. Es ist anzumerken, dass Dendriten mit dieser Größe den größten Prozentsatz aller

Dendriten im AVCN ausmachen. Darunter sind die Terminalien mit runden und pleomorphen Vesikeln in ihrem Volumen um 44% bzw. um 24% reduziert. Laut Helfert et al. kann diese signifikante Verkleinerung dieser Vesikel zur Abnahme der Glyzinmenge im CN um 29% (Banay-Schwartz et al., 1989b) beitragen. Insgesamt fanden Helfert et al. (2003) im AVCN verglichen mit dem IC erheblich geringere altersbedingte Veränderungen. Sie stellen auch fest, dass es trotz der „morphologischen Stabilität“ des AVCN bei alten Ratten Hinweise auf Änderungen der synaptischen Funktion (z.B. Glyzin: Banay-Schwartz et al., 1989a, Glyzinrezeptoren: Milbrandt und Caspar, 1995) gibt.

Neben präsynaptischen Änderungen wurden auch altersbedingte Veränderungen in der Aktivität von GABA- und Glyzinrezeptoren beschrieben.

Beim Vergleich junger und alter „Fischer 344“ Ratten konnten Milbrandt und Caspary (1995) eine signifikante Abnahme der Strychninbindung im AVCN um 23% und im DCN um 26% beobachten. Durch Sättigungsanalysen konnten sie nachweisen, dass die Abnahme an Bindung nicht an einer verringerten Affinität zum Rezeptor, sondern an signifikant verringerten Bindungsstellen liegt. Auch Milbrandt und Caspary schließen die Möglichkeit nicht aus, dass veränderte inhibitorische Transmission einen kompensatorischen Mechanismus darstellt, um das Gleichgewicht zwischen Exzitation und Inhibition aufrechtzuerhalten.

Mittels In- situ- Hybridisation untersuchten Krenning et al. (1998) den Grad der Genexpression von alpha1-, alpha2-, alpha3- und beta- Untereinheiten der Glyzinrezeptoren im AVCN von 3, 18 und 27 Monate alten Fischer 344 Ratten. Die alpha1-Untereinheit nahm zwischen 3 und 27 Monaten um 15% ab, dafür erhöhte sich die alpha2-Untereinheit um 22%. Diese Tatsache könnte auch ein Erklärungsversuch für die verringerte Strychninbindung sein, die Milbrandt und Caspary (1995) feststellten, denn die alpha2-Untereinheit bietet für Strychnin nur geringe Affinität. Zudem bewirkt ein erhöhter alpha2-Anteil verlängerte Durchschnittsöffnungszeiten der Chloridkanäle, was wiederum die Dauer inhibitorischer postsynaptischer Ströme verlängert. Außerdem nahm im AVCN der Ratten die Zahl der Glyzinrezeptoren signifikant ab. Dies führten die Autoren auf die signifikante Abnahme der mRNA der beta-Untereinheit zurück, denn die beta-Einheiten scheinen die integrale Komponente aller Glyzinrezeptoren zu sein. Diese Arbeiten zeigen, dass es im Alter zu sehr komplexen Veränderungen kommt. Krenning et al. interpretieren die altersbedingte Änderung bei den Glyzinrezeptoren

als eine Art Kompensation auf den erniedrigten präsynaptischen Glyzinspiegel (Banay-Schwartz et al., 1989b).

Die Datenlage zum Thema altersbedingter synaptischer Veränderungen des GABAergen Systems im CN ist sehr dünn. Raza et al. (1994) fanden im CN keine altersbedingten Veränderungen der Aktivität des GABAbildenden Enzyms GAD und ebenfalls keine Veränderungen in der Aktivität der GABA-Transaminase, das für die Deaktivierung von GABA im Interzellularraum zuständig ist. Dagegen zeigte sich im zentralen Kern des Inferior Colliculus ein gestörtes Verhältnis in der Ab- und Aufnahme des Transmitters, was insgesamt zu verringerter Transmitterfreisetzung führt.

Übereinstimmend mit einem aktuellen Review (Caspary et al., 2008) konnte ich zum Thema altersbedingter postsynaptischer Veränderungen des GABAergen Systems im CN keine Studien finden.

Untersuchungen, die Caspary et al. (1999) im Inferior Colliculus bei der Ratte vorgenommen hatte, können zumindest einen Einblick verschaffen und stellen Veränderungen in höheren Kerngebieten der Hörbahn dar. Sie untersuchten altersbedingte Veränderungen der Untereinheiten beim GABA_A Rezeptor bei Fischer 344 Ratten und konnten eine signifikante Zunahme der gamma1-Untereinheit bei alten Tieren im Vergleich zu jungen Tieren feststellen. Diese Untereinheit ändert das synaptische Profil derart, dass der GABA_A Rezeptor eine höhere Affinität zu GABA zeigt und gleichzeitig die Durchflussrate der Chloridkanäle erhöht und somit bei alten Ratten im IC eine erhöhte GABA Effizienz bewirkt. Dies stellt wiederum Teil eines Kompensationsprozesses für altersbedingte präsynaptischer Reduktion des GABA-Spiegels dar (Caspary et al., 1999). Da laut Raza et al. (1994) der CN in der Ausschüttung von GABA als Transmitter unverändert bleibt, sich laut Banay-Schwartz (1989a) der GABA-Spiegel im CN nicht ändert und in meiner Arbeit keine bemerkenswerte Veränderung GABAerger Neurone zu erkennen war, gibt es vermutlich keine größeren altersbedingte Veränderung des GABAergen Transmitterprofils im CN.

Im Gegensatz dazu stehen die Beobachtungen einer Zunahme der Anzahl glyzinerger Neuronen. Sie ist signifikant im PVCN (Diagramm 17), die insbesondere im ventralen Bereich des PVCN zu einer erhöhten Dichte glyzinerger Zellen führt (Diagramm 23) und nicht signifikant im DCN (Diagramm 34). Wie diese Zunahme

einzuordnen ist, bleibt unklar, steht sie doch im Gegensatz zu bisherigen Ergebnissen anderer Studien zu altersbedingten Veränderungen inhibitorischer Transmittersysteme in der Hörbahn.

Zusammenfassend zeigen sich in dieser Arbeit für viele der untersuchten Parameter keine altersbedingten Veränderungen. Als signifikante altersbedingte Veränderungen konnten nur eine verringerte AVCN Querschnittsfläche bei einem Teil der alten Tiere und eine erhöhte Zellzahl und Dichte glyzinerger Neurone im PVCN dokumentiert werden. Damit scheint der CN-Komplex im Vergleich zu anderen Kernen der aufsteigenden Hörbahn (z.B. IC, Caspary, 2005) relativ resistent gegen altersbedingte Veränderungen. Dieser Aspekt der Ergebnisse aus der vorliegenden Arbeit deckt sich mit den Beobachtungen von Helfert et al. (2003) bei der Ratte und unterstreicht die Beobachtung, dass in den Kernen der Hörbahn sehr spezifische und unterschiedliche Alterseffekte auftreten (z.B. MNTB: Gleich und Strutz (2002), LSO: Gleich et al., 2004; MSO und LNTB: Gleich O., Dalles C., Strutz J. (2005), Gleich, O. (2007), IC: Gleich, O., Boehmig, J., Strutz, J. (2008)).

Eine Frage, die hier nicht geklärt werden kann ist, inwieweit altersbedingte Änderungen des inhibitorischen Systems durch einen peripheren Hörverlust ausgelöst werden (Caspary et al., 2008), oder ob es unabhängig vom peripheren Hörvermögen zu altersbedingten Veränderungen in der Hörbahn kommt. Die wichtige Rolle des peripheren Hörvermögens wird durch Deprivationsexperimente (z.B. Suneja et al., 1998) oder durch Maus-Modelle mit genetisch früh einsetzender Hörstörung demonstriert (z.B. Willott et al., 1997). Andererseits gibt es Hinweise darauf, dass mit geeigneten Testparametern (gap-detection, Nachverdeckung) altersbedingte Defizite bei der Wahrnehmung dieser komplexeren Stimuli auch bei Probanden auftreten, deren peripheres Hörvermögen normal erscheint (Snell und Frisina, 2000, Hamann et al., 2004; Gleich et al., 2007). Unabhängig von der Ursache beeinträchtigen altersbedingte Veränderungen des inhibitorischen Systems ganz wesentlich die Verarbeitung komplexer Schallsignale in der Hörbahn.

E ZUSAMMENFASSUNG

Das Mittelohr zeigt keine physiologische Alterung, bleibt in seiner mechanischen Funktion im Laufe des Lebens stabil und zeigt keine Alterungsprozesse mit messbaren Höreinbußen (Hesse, 2006), wohingegen das Innenohr mit seiner sensorischen Funktion weitaus anfälliger gegenüber Alterungsprozessen und störender Einflüsse im Laufe eines Lebens ist. Altersbedingte Veränderungen im Innenohr, die zu verschlechtertem Hörvermögen (periphere Hörstörung) führen können, sind weitgehend bekannt. Sie äußern sich vor allem in verminderter Frequenzselektivität und Erhöhung der Schwellenwerte, beginnend im basalen (hochfrequenten) Bereich der Cochlea. Hörgeräte sind in der Lage, diesen erhöhten Schwellenwert auszugleichen. Das eigentliche Problem in der Hörakustik stellen Veränderungen im zentralen Teil des Gehörs dar. Denn infolge, zusätzlicher oder auch ohne peripherer Alterungsprozesse, können zentrale Veränderungen im Laufe des Älterwerdens auftreten. Betroffene haben trotz passender Hörgeräte Probleme, Sprache bei Hintergrundgeräuschen, also hauptsächlich im gesellschaftlichen Umfeld, zu verstehen. Psychoakustische Studien bei Menschen und Tieren bestätigten, dass zentrale Veränderungen in der Hörbahn dafür verantwortlich sind. Zudem zeigten physiologische Tests, dass vor allem Veränderungen im inhibitorischen System für eine verschlechterte zeitliche Codierung von Schallsignalen und folglich für ein verschlechtertes Sprachverständnis, verantwortlich sind.

Der Nucleus cochlearis (CN) ist mit seinen Unterkernen, dem anteroventralen (AVCN), posteroventralen (PVCN) und dorsalen (DCN) Cochleariskern, der erste Kern in der aufsteigenden Hörbahn. Er stellt die erste Relais-Station der aufsteigenden Hörbahn dar, in der Schallinformationen aus der Cochlea über den Hörnerv in die zentrale Hörbahn umgeschaltet werden. Über ihn gelangen Informationen in den Oberen Olivenkomplex (SOC) und Inferior Colliculus (IC). In der vorliegenden Arbeit wird der CN auf mögliche altersbedingte morphologische Veränderungen hin untersucht. Es wurden Messungen durchgeführt, die Aufschlüsse über Größenveränderungen der CN-Unterkerne AVCN, PVCN und DCN und Veränderungen von Anzahl und Dichte GABA- und glyzinexprimierender Neurone liefern. Hierzu wurden 11 „junge“ Gerbils im Alter von 4-16 Monaten und 18 „alte“ Gerbils mit 36-57 Lebensmonaten untersucht und verglichen.

Es zeigten sich für viele der untersuchten Parameter im CN keine altersbedingten Veränderungen. Als signifikante altersbedingte Veränderungen ließ sich nur eine verringerte AVCN Querschnittsfläche bei einem Teil der alten Tiere feststellen. PVCN und DCN zeigten dahingehend keine Änderung. Die verringerte AVCN Querschnittsfläche scheint unabhängig von peripherem Hörverlust eine individuelle Erscheinungsform alter Gerbils (> 36 Monate) zu sein, da nur knapp die Hälfte der alten Tiere deutlich geringere Messwerte aufwiesen. Dieses Ergebnis steht in Übereinstimmung mit den Beobachtungen, die Gleich et al. (1989) beim Gerbil und Königsmark und Murphy (1972) beim Menschen machten.

Zudem zeigte sich eine erhöhte Zellzahl und Dichte glyzinerger Neurone vor allem im ventralen Bereich des PVCN. Auch im DCN konnte eine deutliche, aber nicht signifikante Erhöhung glyzinerger Neurone beobachtet werden. Wie diese Zunahme einzuordnen ist, bleibt unklar, steht sie doch im Gegensatz zu bisherigen Ergebnissen anderer Studien, die im Zusammenhang mit altersbedingten Veränderungen eine Abnahme des inhibitorischen glyzinerger Transmittersystems aufzeigten (Banay-Schwartz et al., 1989b, Milbrandt und Caspar, 1995, Krenning et al., 1998, Willott et al. 1997, Caspary et al., 2008).

Die Anzahl und Zelldichte GABAerger Neurone unterschied sich zwischen jungen und alten Gerbils nicht bemerkenswert und weist in Übereinstimmung mit anderen Studien darauf hin (Banay-Schwartz, 1989a, Raza et al., 1994), dass im CN keine größeren altersbedingten Veränderungen des GABAergen Transmitterprofils zu finden sind.

Fest steht, dass im Vergleich zu anderen Kernen der aufsteigenden Hörbahn der CN-Komplex gegenüber altersbedingten Veränderungen relativ resistent ist und dass sich altersbedingte Veränderungen innerhalb der Kerne der aufsteigenden Hörbahn sehr spezifisch und unterschiedlich auswirken.

F LITERATURVERZEICHNIS

ALIBARDI, L. (2000d): Cytology, synaptology and immunocytochemistry of commissural neurons and their putative axonal terminals in the dorsal cochlear nucleus of the rat. *Anat Anz* 182: 207-220

ANNIKO, M., Sjöström, B., Webster, D. (1989): The effects of auditory deprivation on morphological maturation of the ventral cochlear nucleus. *Arch Otorhinolaryngol* 246(1):43-47

ASAKO, M., Holt, A.G., Griffith, R.D., Buras, E.D., Altschuler, R.A. (2005): Deafness-related decreases in glycine-immunoreactive labeling in the rat cochlear nucleus. *J Neurosci Res* 81(1):102-109

BACKOFF, P.M., Palombi, P.S., Caspary, D.M. (1997): Glycinergic and GABAergic inputs affect short-term suppression in the cochlear nucleus. *Hear Res* 110(1-2):155-163

BACKOFF, P.M., Shadduck Palombi, P., Caspary, D.M. (1999): Gamma-aminobutyric acidergic and glycinergic inputs shape coding of amplitude modulation in the chinchilla cochlear nucleus. *Hear Res* 134(1-2):77-88

BANAY-SCHWARTZ, M., Lajtha, A., Palkovits, M. (1989a): Changes with aging in the levels of amino acids in rat CNS structural elements. I. Glutamate and related amino acids. *Neurochem Res* 14(6):555-562

BANAY-SCHWARTZ, M., Lajtha, A., Palkovits, M. (1989b): Changes with aging in the levels of amino acids in rat CNS structural elements. II. Taurine and small neutral amino acids. *Neurochem Res* 14(6):563-570

BENSON, C.G. und POTASHNER, S.J. (1990): Retrograde transport of [3H]glycine from the cochlear nucleus to the superior olive in the guinea pig. *J Comp Neurol* 296(3):415-426.

BOETTCHER, F.A., Mills, J.H., Norton, B.L. (1993a): Age-related changes in auditory evoked potentials of gerbils. I. Response amplitudes. *Hear Res* 71(1-2):137-145

BOETTCHER, F.A., Mills, J.H., Swerdloff, J.L., Holley, B.L. (1996): Auditory evoked potentials in aged gerbils: responses elicited by noises separated by a silent gap. *Hear Res* 102(1-2):167-178

BRAWER, J. R., Morest, K., Kane, E. C. (1974): The neuronal architecture of the cochlear nucleus of the cat. *J Comp Neurol* 155: 251-300

CANT, N. B. (1981): The fine structure of two types of stellate cells in the anterior division of the anteroventral cochlear nucleus of the cat. *Neuroscience* 6: 2643-2655

CANT, N. B., Gaston, K. C. (1982): Pathways connecting the right and the left cochlear nuclei. *J Comp Neurol* 212: 313-326

CANT, N. B. (1991): Projections to the Lateral and Medial Superior Olivary Nuclei from the Spherical and Globular Bushy Cells of the Anteroventral Cochlear Nucleus. In: Altschuler, R. A., Bobbin, R. P., Clopton, M. R., Hoffman, D. W. (eds.) *Neurobiology of Hearing: The Central Auditory System*. Raven Press, New York, pp 99-120

CANT, N. B. (1992): The Cochlear Nucleus: Neuronal Types and Their Synaptic Organization. In: Popper A.N., Fay, R.R. (eds.) *Springer Handbook of Auditory Research: The mammalian auditory pathway: Neuroanatomy*. Springer Verlag, New York, pp 66-116

CANT, N. B., Benson, C. G.. (2003): Parallel auditory pathways: projection patterns of the different neuronal populations in the dorsal and ventral cochlear nuclei. *Brain Res Bul* 60: 457-474

CASPARY, D. (1972): Classification of subpopulations of neurons in the cochlear nuclei of the kangaroo rat. *Exp Neurol* 37: 131-151

CASPARY, D.M., Pazara, K.E., Kössl, M., Faingold, C.L. (1987): Strychnine alters the fusiform cell output from the dorsal cochlear nucleus. *Brain Res.* 417(2):273-282

CASPARY, D.M., Backoff, P.M., Finlayson, P.G., Palombi, P.S. (1994): Inhibitory inputs modulate discharge rate within frequency receptive fields of anteroventral cochlear nucleus neurons. *J Neurophysiol* 72(5):2124-2133

CASPARY, D.M., Milbrandt, J.C., Helfert, R.H. (1995): Central auditory aging: GABA changes in the inferior colliculus. *Exp Gerontol* 30(3-4):349-360

CASPARY, D.M., Holder, T.M., Hughes, L.F., Milbrandt, J.C., McKernan, R.M., Naritoku, D.K. (1999): Age-related changes in GABA(A) receptor subunit composition and function in rat auditory system. *Neuroscience* 93(1):307-312

CASPARY, D.M., Schatteman, T.A., Hughes, L.F. (2005): Age-related changes in the inhibitory response properties of dorsal cochlear nucleus output neurons: role of inhibitory inputs. *J Neurosci* 25(47):10952-10959

CASPARY, D.M., Ling, L., Turner, J.G., Hughes, L.F. (2008): Inhibitory neurotransmission, plasticity and aging in the mammalian central auditory system. *J Exp Biol* 211(Pt 11):1781-1791

CLARK, J.G. (1981): Uses and abuses of hearing loss classification. *ASHA.* 23(7):493-500

COLEMAN, J., Blatchley, B.J., Williams, J.E. (1982): Development of the dorsal and ventral cochlear nuclei in rat and effects of acoustic deprivation. *Brain Res* 256(1):119-123

DING, J., Benson, T. E., Voigt, H. H. (1999): Acoustic and current-pulse responses of identified neurons in the dorsal cochlear nucleus of unanesthetized, decerebrate gerbils. *J Neurophysiol* 82: 3434-3457

DISTERHOFT, J. F., Perkins, R. E., Evans, S. (1980): Neuronal morphology of the rabbit cochlear nucleus. *J Comp Neurol* 192: 687-702

DOUCET, J. R., Ryugo, D. K. (1997): Projections from the ventral cochlear nucleus to the dorsal cochlear nucleus in rats. *J Comp Neurol* 385: 245-264

DOUCET, J. R., Ross, A. T., Gillespie, M. B., Ryugo, D. K. (1999): Glycine immunoreactivity of multipolar neurons in the ventral cochlear nucleus which project to the dorsal cochlear nucleus. *J Comp Neurol* 408: 515-531

EBERT, U. und OSTWALD, J. (1995): GABA can improve acoustic contrast in the rat ventral cochlear nucleus. *Exp Brain Res* 104(2):310-322

FENG, A.S.und Vater, M. (1985): Functional organization of the cochlear nucleus of rufous horseshoe bats (*Rhinolophus rouxi*): frequencies and internal connections are arranged in slabs. *J Comp Neurol* 235(4):529-553

FENG, J. J., Kuwada, S., Ostapoff, E.-M., Batra, R., Morest, D. K. (1994): A physiological and structural study of neuron types in the cochlear nucleus. I. Intracellular responses to acoustic stimulation and current injection. *J Comp Neurol* 346: 1-18

FERRAGMO, M. J. und OERTEL, D. (2001): Functional circuitry of the cochlear nucleus: In vitro studies in slices. In: Willott, J.F. (eds.) *Handbook of Mouse Auditory Research: From Behavior to Molecular Biology*. Boca Raton, CRC Press LLC, pp 297-309

FLECKEISEN, C. E, Harrison, R.V., Mount,R.J (1991): Cytoarchitecture of cochlear nucleus in the chinchilla. *Acta Otolaryngol (Stockh)*; Suppl 489: 12-22

FLECKEISEN, C.E., Harrison, R.V., Mount, R.J. (1991): Effects of total cochlear haircell loss on integrity of cochlear nucleus. A quantitative study. *Acta Otolaryngol Suppl* 489:23-31

FÖRSTER, C.R. und ILLING, R.B. (2000): Plasticity of the auditory brainstem: cochleotomy-induced changes of calbindin-D28k expression in the rat. *J Comp Neurol* 416(2):173-187

FRISINA, R.D. und WALTON, J.P., Karcich KJ. (1994): Dorsal cochlear nucleus single neurons can enhance temporal processing capabilities in background noise. *Exp Brain Res* 102(1):160-164

FRISINA, D.R. und FRISINA, R.D. (1997): Speech recognition in noise and presbycusis: relations to possible neural mechanisms. *Hear Res.* 106(1-2):95-104.

FRISINA, R.D. Jr. (2001): Anatomical and neurochemical bases of presbycusis. In: Hof, P.R., Mobbs, C.V. (Eds.), *Functional Neurobiology of Aging*. Academic Press, San Diego, pp 531-547

FRISINA, R. D., Walton, J. P. (2001): Neuroanatomy of the central auditory system. In: Willott, J.F. (eds.) *Handbook of Mouse Auditory Research: From Behavior to Molecular Biology*. Boca Raton, CRC Press LLC, pp 243-278

GLEICH, O. und STRUTZ J. (1997): Age-dependent effects of the onset of a conductive hearing loss on the volume of the cochlear nucleus subdivisions and the expression of c-fos in the mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). *Audiol Neurotol* 2(3):113-127

GLEICH, O., Kadow, C., Strutz, J. (1998): The postnatal growth of cochlear nucleus subdivisions and neuronal somata of the anteroventral cochlear nucleus in the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). *Audiol Neurotol* 3(1):1-20

GLEICH, O. und VATER, M. (1998): Postnatal development of GABA- and glycine-like immunoreactivity in the cochlear nucleus of the mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). *Cell Tissue Res* 293: 207-225

GLEICH, O., Schäfer, B., Kadow, C., Stuermer, W., Strutz, J. (2000): Domestication differentially affects cochlear nucleus subdivisions in gerbil. *J. Comp Neurol* 25, 428(4): 609-615

GLEICH, O. und STRUTZ, J. (2002): Age dependent changes in the medial nucleus of the trapezoid body in gerbils. *Hear Res* 164(1-2):166-178

GLEICH, O., Hamann, I., Klump, G.M., Kittel, M., Strutz, J. (2003): Boosting GABA improves impaired auditory temporal resolution in the gerbil. *Neuroreport* 14(14):1877-1880

GLEICH, O., Weiss, M., Strutz, J. (2004): Age-dependent changes in the lateral superior olive of the gerbil (*Meriones unguiculatus*). *Hear Res* 194(1-2):47-59

GLEICH, O., Dalles, C., Strutz, J. (2005): Altersbedingte Veränderungen des LNTB bei der Wüstenrennmaus. *HNO-Informationen* 84, p96

GLEICH, O., Hamann, I., Kittel, M.C., Klump, G.M., Strutz, J. (2006): A quantitative analysis of psychometric functions for different auditory tasks in gerbils. *Hear Res* 220(1-2):27-37

GLEICH, O. (2007): Altersbedingte zentrale Hörstörungen und funktionelle Veränderungen der aufsteigenden Hörbahn. In: Hören im Alter, 13. Multidisziplinäres Kolloquium der GEERS-STIFTUNG, Band 16, (Ed.: Specht, H. v.), Gustav Kleff GmbH & Co. KG, Dortmund, pp57-76

GLEICH, O., Hamann, I., Kittel, M.C., Klump, G.M., Strutz, J. (2007): Forward masking in gerbils: the effect of age. *Hear Res* 223(1-2):122-128

GLEICH, O., Boehmig, J., Strutz, J. (2008): Charakterisierung der Verteilung GABAerger Neurone im Colliculus inferior der Wüstenrennmaus. Abstractband zur 79. Jahresversammlung der Deutschen Gesellschaft für Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde, p. 152: <http://www.egms.de/en/meetings/hnod2008/08hnod391.shtml>

HACKNEY, C. M., Osen, K. K., Kolston, J. (1990): Anatomy of the cochlear nuclear complex of guinea pig. *Anat Embriol* 182: 123-149

HAMANN, I., Gleich, O., Klump, G.M., Kittel, M.C., Boettcher, F.A., Schmiedt, R.A., Strutz, J. (2002): Behavioral and evoked-potential thresholds in young and old Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*). *Hear Res* 171(1-2):82-95

HAMANN, I., Gleich, O., Klump, G.M., Kittel, M.C., Strutz, J. (2004): Age-dependent changes of gap detection in the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). *J Assoc Res Otolaryngol* 5(1):49-57

HASHISAKI, G.T., Rubel, E.W. (1989): Effects of unilateral cochlea removal on anteroventral cochlear nucleus neurons in developing gerbils. *J Comp Neurol* 283(4):5-73

HELFERT, R.H., Krenning, J., Wilson, T.S., Hughes, L.F. (2003): Age-related synaptic changes in the anteroventral cochlear nucleus of Fischer-344 rats. *Hear Res* 183(1-2):18-28

HESSE, G. (2006): Diagnostik peripherer und zentraler Hörstörungen im Alter. In: Specht, H. (Eds.), Hören im Alter. Materialsammlung vom 13. Multidisziplinären Kolloquium der Geers-Stiftung, Band 16, S.77-87

IDRIZBEGOVIC, E., Canlon, B., Bross, L.S., Willott, J.F., Bogdanovic, N. (2001): The total number of neurons and calcium binding protein positive neurons during aging in the cochlear nucleus of CBA/CaJ mice: a quantitative study. *Hear Res* 158(1-2):102-115

JORIS, P. X., Smith, P. H., Yin, T. C. T. (1992): Responses and projections of dorsal and intermediate stria axons, labelled with HRP or neurobiotin. *Assoc Res Otolaryngol Abstr* 15: 58

KOLSTON, J., OSEN, K. K., Hchney, C. M., Otterson, O. P., Storm-Mathisen, J. (1992): An atlas of glycine- and GABA-like immunoreactivity and colocalization in the cochlear nuclear complex of the guinea pig. *Anat Embryol* 186: 443-465

KONIGSMARK, B.W. und MURPHY, E.A. (1972): Volume of the ventral cochlear nucleus in man: its relationship to neuronal population and age. *J Neuropathol Exp Neurol* 31(2):304-316

KRENNING, J., Hughes, L.F., Caspary, D.M., Helfert, R.H. (1998): Age-related glycine receptor subunit changes in the cochlear nucleus of Fischer-344 rats. *Laryngoscope* 108(1 Pt 1):26-31

KUDO, M., Nakamura, Y., Tokuno, H., Kitao, Y. (1990): Auditory brainstem in the mole (*Mogera*): nuclear configurations and the projections to the inferior colliculus. *J Comp Neurol* 298(4):400-412

LÖSCHER, W. und FREY, H.H. (1987): One to three day dose intervals during subchronic treatment of epileptic gerbils with gamma-vinyl GABA: anticonvulsant efficacy and alterations in regional brain GABA levels. *Eur J Pharmacol* 143(3):335-342

MILBRANDT, J.C. und CASPARY, D.M. (1995): Age-related reduction of [3H]strychnine binding sites in the cochlear nucleus of the Fischer 344 rat. *Neuroscience* 67(3):713-719

MILLS, J.H., Schmiedt, R.A., Kulish, L.F. (1990): Age-related changes in auditory potentials of Mongolian gerbil. *Hear Res* 46(3):201-210

MOORE, J. K., Osen, K. K. (1979): The nuclei of man. *Am J Anat* 154: 393-418

MOREST, D. K., Hutson, K. A., Kwok S. (1990): Cytoarchitectonic atlas of the cochlear nucleus of the chinchilla, *chinchilla laniger*. *J Comp Neurol* 300: 230-248

MUGNAINI, E. (1985): GABA neurons in the superficial layer of rat dorsal cochlear nucleus: Light and electron microscopic immunocytochemistry. . J Comp Neurol 235: 61-81

OERTEL, D. und Wu, S. H. (1989): Morphology and physiology of cells in slice preparations of the dorsal cochlear nucleus of mice. J Comp Neurol 283: 228-247

OERTEL, D., Wu, S. H., Garb, M. W., Dizack, C. (1990): Morphology and physiology of cells in slices preparations of the posteroventral cochlear nucleus of mice. J Comp Neurol 295: 136-154

OERTEL, D. (1997): Encoding of timing in the brain stem auditory nuclei of vertebrates. Neuron 19: 959-962

OERTEL, D. (1999): The role of timing in the brain stem auditory nuclei of vertebrates. Annu Rev Physiol 61: 497-519

osen, K. K., Jansen, J. (1965): The cochlear nuclei in the common porpoise, *Phocaena phocaena*. J Comp Neurol 125: 223-258

osen, K. K. (1969): cytoarchitecture of the cochlear nuclei in the cat. J Comp Neurol 136: 453-484

osen, K. K., Ottersen, O. P., Storm-Mathisen, J. (1990): Colocalization of glycine-like and GABA-like immunoreactivities: a semiquantitative study of individual neurons in the dorsal cochlear nucleus of cat. In: Ottersen, O. P., Storm-Mathisen, J. (eds.), Glycine Transmission, Wiley, New York, pp 417-451

OSTAPOFF, E.M., Morest, D.K., Potashner, S.J. (1990): Uptake and retrograde transport of [3H]GABA from the cochlear nucleus to the superior olive in the guinea pig. J Chem Neuroanat 3(4):285-295

OSTAPOFF, E.-M., Feng, J. J., Morest, D. K. (1994): A physiological and structural study of neuron types in the cochlear nucleus. II. Neuron types and their structural correlation with response properties. *J Comp Neurol* 346: 19-42

POLJANSKY, S., Gleich, O., Strutz, J. (2001): Unilateral acoustical deprivation affects expression of GABA and glycine in neurons of the gerbil dorsal cochlear nucleus (DCN). In: *Proceedings of the 4th Meeting of the German Neuroscience Society 2001, Volume I, 28th Göttingen Neurobiology Conference* (Eds.: Elsner N., Kreutzberg G.W.) Thieme Verlag Stuttgart, Vol. 2, p433

POTH, E.A., Boettcher, F.A., Mills, J.H., Dubno, J.R. (2001): Auditory brainstem responses in younger and older adults for broadband noises separated by a silent gap. *Hear Res* 161(1-2):81-86

RAZA, A., Milbrandt, J.C., Arneric, S.P., Caspary, D.M. (1994): Age-related changes in brainstem auditory neurotransmitters: measures of GABA and acetylcholine function. *Hear Res* 77(1-2):221-230

RHODE, W. S., Oertel, D., Smith, P. H. (1983): Physiological response properties of cells labeled intracellularly with horseradish peroxidase in cat ventral cochlear nucleus. *J Comp Neurol* 212: 448-463

ROBERTS, R. C. und RIBAK, C. E. (1987): GABAergic neurons and axon terminals in the brainstem auditory nuclei of the gerbil. *J Comp Neurol* 258: 267-280

RUBIO, M. E., Gudsuk, K. A., Smith, Y., Ryugo, D. K. (2008): Revealing the molecular layer of the primate dorsal cochlear nucleus. *Neuroscience* 12; 154(1): 99-113

RYUGO, D. K. (1992): The auditory nerve: peripheral innervation, cell body morphology, and central projections. In: Popper A.N., Fay, R.R. (eds.) *Springer Handbook of Auditory Research: The mammalian auditory pathway: Neuroanatomy*. Springer Verlag, New York, pp 23-65

RYUGO, D.K., Pongstaporn, T., Wright, D.D., Sharp, A.H. (1995): Inositol 1,4,5-trisphosphate receptors: immunocytochemical localization in the dorsal cochlear nucleus. *J Comp Neurol* 358(1):102-118

SAINT MARIE, R. L., Benson, C. G., Ostapoff, E.-M., Morest, D. K. (1991): Glycine immunoreactive projections from the dorsal to the anteroventral cochlear nucleus. *Hear Res* 51: 11-28

SALVI, R.S., Ding, D., Eddins, A.C., Mc Fadden, S.L., Henderson, D. (2001): Age, noise, and ototoxoc agents. In: Hof, P.R., Mobbs, C.V. (Eds.), *Functional Neurobiology of Aging*. Academic Press, San Diego, pp 549-563

SCHMITH, P. H. und RHODE, W. S. (1985): Electron microscopic features of physiologically characterized, hrp- labeled fusiform cells in the cat dorsal cochlear nucleus. *J Comp Neurol* 237: 127-143

SCHMITH, P. H. und RHODE, W. S. (1989): Structural and functional properties distinguish two types of multipolar cells in the ventral cochlear nucleus. *J Comp Neurol* 282: 595-616

SELDON, H. L., Clark, G. M. (1991): Human cochlear nucleus: comparison of nissl-stained neurons from deaf and hearing patients. *Brain Res* 551: 185-194

SHA, S.H., Kanicki, A., Dootz, G., Talaska, A.E., Halsey, K., Dolan, D., Altschuler, R., Schacht, J. (2008): Age-related auditory pathology in the CBA/J mouse. *Hear Res* 243(1-2):87-94

SNELL, K.B. (1997): Age-related changes in temporal gap detection. *J Acoust Soc Am* 101(4):2214-2220

SNELL, K.B. und FRISINA, D.R. (2000): Relationships among age-related differences in gap detection and word recognition. *J Acoust Soc Am* 107(3):1615-1626

SUNEJA, S.K., Potashner, S.J, Benson, C.G. (1998): Plastic changes in glycine and GABA release and uptake in adult brain stem auditory nuclei after unilateral middle ear ossicle removal and cochlear ablation. *Exp Neurol* 151(2):273-288

SUNEJA, S.K., Benson, C.G., Potashner, S.J. (1998): Glycine receptors in adult guinea pig brain stem auditory nuclei: regulation after unilateral cochlear ablation. *Exp Neurol* 154(2):473-488

STRUTZ, J. (1987): Die Anatomie der zentralen Hörbahn - Eine Darstellung mit Meerrettichperoxidase beim Meerschweinchen. *HNO* 35: 407-415

TARNOWSKI, B.I., Schmiedt, R.A., Hellstrom, L.I., Lee, F.S., Adams, J.C. (1991): Age-related changes in cochleas of mongolian gerbils. *Hear Res* 54(1):123-134

TRETTEL, J., Morest, D. K. (2001): Cytoarchitectonic atlas of the cochlear nucleus of the mouse. In: Willott, J.F. (eds.) *Handbook of Mouse Auditory Research: From Behavior to Molecular Biology*. Boca Raton, CRC Press LLC, pp 279-296

WEBSTER, D.B. (1971): Projections of the cochlear nuclei in Merriam's kangaroo rat. *J Comp Neurol* 143(3): 323-340

WEBSTER, D.B. (1982): Cochlear nuclear complex of mice. *Am J Anat* 163: 103-130

WEBSTER, D.B. (1988): Conductive hearing loss affects the growth of the cochlear nuclei over an extended period of time. *Hear Res* 32(2-3):185-192

WEBSTER, D.B. (1992): An overview of mammalian auditory pathways with an emphasis on humans. In: Popper A.N., Fay, R.R. (eds.) *Springer Handbook of Auditory Research: The mammalian auditory pathway: Neuroanatomy*. Springer Verlag, New York, pp 1-22

WENTHOLD, R. J., Zempel, J. M., Parakkal, M. H., Reeks, K. A., Altschuler, R. A. (1986): Immunocytochemical localization of GABA in the cochlear nucleus in the guinea pig. *Brain Res* 380: 7-18

WENTHOLD, R. J. (1987): Evidence for a glycinergic pathway connecting the two cochlear nuclei: an immunocytochemical and retrograde transport study. *Brain Res* 415: 183-187

WENTHOLD, R. J., Hunter, C. (1990): Immunocytochemistry of glycine and glycine receptors in the central auditory system. In: Ottersen, O. P., Storm-Mathisen, J. (eds.), *Glycine Transmission*, Wiley, New York, pp 391-416

WICKESBERG, R. E., Oertel, D. (1988): Tonotopic projection from the dorsal to the anteroventral cochlear nucleus of mice. *J Comp Neurol* 268: 389-399

WICKESBERG, R. E., Oertel, D. (1990): Delayed, frequency-specific inhibition in the cochlear nuclei of mice: a mechanism for echo suppression. *J Neuroscience* 10: 1762-1768

WICKESBERG, R. E., Whitlon, D., Oertel, D. (1991): Tuberculoventral neurons project to the multipolar cell area but not to the octopus cell area of the posteroventral cochlear nucleus. *J Comp Neurol* 313: 457-468

WICKESBERG, R. E., Whitlon, D., Oertel, D. (1994): In vitro modulation of somatic glycine-like immunoreactivity in presumed glycinergic neurons. *J Comp Neurol* 339: 311-327

WILLOTT, J.F., Jackson, L.M., Hunter, K.P. (1987): Morphometric study of the anteroventral cochlear nucleus of two mouse models of presbycusis. *J Comp Neurol* 260(3):472-480

WILLOTT, J.F., BROSS, L.S. (1990): Morphology of the octopus cell area of the cochlear nucleus in young and aging C57BL/6J and CBA/J mice. *J Comp Neurol* 300(1):61-81

WILLOTT, J.F., Bross, L.S., McFadden, S.L. (1992): Morphology of the dorsal cochlear nucleus in C57BL/6J and CBA/J mice across the life span. *J Comp Neurol* 321(4):666-678

WILLOTT, J.F., Bross, L.S., McFadden, S.L. (1994): Morphology of the cochlear nucleus in CBA/J mice with chronic, severe sensorineural cochlear pathology induced during adulthood. *Hear Res* 74(1-2):1-21

WILLOTT, J.F. und BROSS, L.S. (1996): Morphological changes in the anteroventral cochlear nucleus that accompany sensorineural hearing loss in DBA/2J and C57BL/6J mice. *Brain Res Dev Brain Res* 91(2):218-226

WILLOTT, J.F., Milbrandt, J.C., Bross, L.S., Caspary, D.M. (1997): Glycine immunoreactivity and receptor binding in the cochlear nucleus of C57BL/6J and CBA/CaJ mice: effects of cochlear impairment and aging. *J Comp Neurol* 385(3):405-414

YOUNG, E. D. und OERTEL, D. (2004): Cochlear nucleus. In: Shepherd, G. (eds.) *The synaptic Organization of the Brain*, 5th ed., Oxford University Press, New York, pp 125-163

ZHANG, S. U. und OERTEL, D. (1993a): Cartwheel and superficial stellate cells of the dorsal cochlear nucleus of mice: Intracellular recordings in slices. *J Neurophysiol* 69: 1384-1397

ZHANG, S. U. und OERTEL, D. (1993b): Tuberculoventral cells of the dorsal cochlear nucleus of mice: Intracellular recordings in slices. *J Neurophysiol* 69: 1409-1421

ZHANG, S. U. und OERTEL, D. (1993c): Giant cells of the dorsal cochlear nucleus of mice: Intracellular recordings in slices. *J Neurophysiol* 68: 1398-1408

ZHOU, J. und SHORE, S. (2004): Projections from the trigeminal nuclear complex to the cochlear nuclei: a retrograde and anterograde tracing study in the guinea pig. *J Neurosci Res*. 78(6):901-907

ZOOK, J.M., Casseday, J.H. (1982): Cytoarchitecture of auditory system in lower brainstem of the mustache bat, *Pteronotus parnellii*. *J Comp Neurol* 207(1):1-13

G ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

CN	C ochlearis N ucleus, Cochleariskern
GABA	G amma- A mino- B utyric A cid, Gamma-Amino-Buttersäure
GAD	G lutamic- A cid- D ecarboxylase, Glutaminsäure-Decarboxylase
IC	I nterior C olliculus
SOC	S uperior O livary C omplex, oberer Olivenkplex
MSO	M edial S uperior O live; mediale obere Olive
LSO	L ateral S uperior O live, laterale obere Olive
MNTB	M edial N ucleus of T rapezoid B ody, mediales Trapezkörperchen
LNTB	L ateral N ucleus of T rapezoid B ody, laterales Trapezkörperchen
VNLL	V entral N ucleus of L ateral L emniscus, ventraler Kern des lateralen Lemniskus
IAS	I ntermediate A coustic S tria, mittlere akustische Stria
DAS	D orsal A coustic S tria, dorsale akustische Stria
IPSP	I nhibitory P ostsynaptic P otential, inhibitorisches postsynaptisches Potential

H DANKSAGUNG

Bei Herrn Prof. Dr. J. Strutz möchte ich mich für die freundliche Überlassung des Promotionsthemas bedanken.

Einen besonders großen Dank möchte ich Herrn Dr. Gleich für seine äußerst geduldige und jederzeit hilfsbereite Betreuung aussprechen. Sein freundliches und menschliches Wesen haben zum Gelingen dieser Arbeit maßgeblich beigetragen.

Ferner möchte ich mich bei Frau U. Beiderbeck für die Herstellung der Gehirnschnittserien bedanken.

Weiterhin möchte ich mich bei meinem Ehemann für die moralische Unterstützung während meines Studiums und der Dissertation bedanken.

Zuletzt gilt mein herzlichster Dank meinen Eltern, die mir immer viel Geduld und Verständnis entgegenbrachten und durch Ihre Unterstützung meinen bisherigen Lebensweg ermöglicht haben.

I LEBENS LAUF

Name:	Katrin Stehle
Geburtsdatum:	06.11.1977
Geburtsort:	Zwiesel
Eltern:	Carmen Thurnbauer, Fachlehrerin Stephan Thurnbauer, Landwirtschaftsdirektor i.R.
Familienstand:	verheiratet, seit 2009 mit Alexander Stehle, Kaufmann
Wohnort:	Engelburgergasse 20, 93047 Regensburg
Schullaufbahn:	1984-1988 Grundschule Regen 1988-1997 Gymnasium Zwiesel
1. Hochschulsesemester:	WS 1997/98 in Freising/ Weihenstephan
Freiwillig Soziales Jahr:	01.09.1998 – 31.08.1999 Fachklinik Bad Heilbrunn
Angestellte der Post AG:	08.11.1999 - 31.03.2000
Studium der Zahnmedizin:	2000 - 2006 April 2001: Naturwissenschaftliche Vorprüfung März 2003: Zahnärztliche Vorprüfung Februar - Juni 2006: Staatsexamen 21. Juli. 2006: Approbation als Zahnärztin
Beruflicher Werdegang:	Seit November 2006 Vorbereitungsassistentin bei Dr. Hans Fries, Falkenstein und Dr. Alexander Süllner, Bogen Ab März 2010 angestellte Zahnärztin bei Dr. Christian Langer, Wemding